

Mémoire de fin d'étude  
Dominante PISTV

2010/2011

Manuella Noreskal



**TPOLOGIE DES PRATIQUES AGRICOLES  
SUR SOLANACÉES ET DIVERSITÉ  
GÉNÉTIQUE DE *RALSTONIA  
SOLANACEARUM*, AGENT CAUSAL DU  
FLÉTRISSEMENT BACTÉRIEN EN GUYANE**

## MÉMOIRE

Présenté par : *Noreskal Manuella*

Dans le cadre de la **dominante d'approfondissement** :  
*PISTv (Production et innovation dans les systèmes techniques végétaux)*

Stage effectué du 15 mars 2011 au 15 septembre 2011

À : *Service de l'alimentation de la DAAF de la Guyane*  
*Parc Rebard*  
*BP5002*  
*97305 Cayenne Cedex*

Sur le **thème** :

*Typologie des pratiques agricoles sur solanacées et diversité génétique de *R. solanacearum*, agent causal du flétrissement bactérien en Guyane*

Rapport non confidentiel

**Pour l'obtention du :**  
**DIPLÔME D'INGÉNIEUR D'AGROPARISTECH**  
**Cursus ingénieur agronome**  
**et du DIPLÔME D'AGRONOMIE APPROFONDIE**

**Enseignante-tuteur responsable de stage :** *Claire Neema*

**Maîtres de stage :** *Luc Lebreton (SALIM DAAF), Pierre Bouteiller (EPLEFPA), Jean Guyot (CIRAD)*

**Soutenu le** *30/09/2011*

## Engagement de non plagiat

### ① Principes

- Le plagiat se définit comme l'action d'un individu qui présente comme sien ce qu'il a pris à autrui.
- Le plagiat de tout ou parties de documents existants constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée
- Le plagiat concerne entre autres : des phrases, une partie d'un document, des données, des tableaux, des graphiques, des images et illustrations.
- Le plagiat se situe plus particulièrement à deux niveaux : Ne pas citer la provenance du texte que l'on utilise, ce qui revient à le faire passer pour sien de manière passive. Recopier quasi intégralement un texte ou une partie de texte, sans véritable contribution personnelle, même si la source est citée.

### ② Consignes

- Il est rappelé que la rédaction fait partie du travail de création d'un rapport ou d'un mémoire, en conséquence lorsque l'auteur s'appuie sur un document existant, il ne doit pas recopier les parties l'intéressant mais il doit les synthétiser, les rédiger à sa façon dans son propre texte.
- Vous devez systématiquement et correctement citer les sources des textes, parties de textes, images et autres informations reprises sur d'autres documents, trouvés sur quelque support que ce soit, papier ou numérique en particulier sur internet.
- Vous êtes autorisés à reprendre d'un autre document de très courts passages in extenso, mais à la stricte condition de les faire figurer entièrement entre guillemets et bien sûr d'en citer la source.

**③ Sanction :** En cas de manquement à ces consignes, le département SIAFEE se réserve le droit d'exiger la réécriture du document, dans ce cas la validation de l'Unité d'Enseignement ou du diplôme de fin d'études sera suspendue.

### ④ Engagement :

Je soussigné (e) \_\_\_\_\_  
Reconnait avoir lu et m'engage à respecter les consignes de non plagiat  
A \_\_\_\_\_ le \_\_\_\_\_  
Signature :

Cet engagement de non plagiat doit être inséré en début de tous les rapports, dossiers, mémoires.

# *Remerciements*

Je remercie chaleureusement toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réussite du stage

A tous les agriculteurs, qui se sont prêtés au jeu des enquêtes sans qui ce travail n'aurait pu être possible

A toutes les personnes d'organismes agricoles qui m'ont fait part de leurs connaissances du terrain, de leurs contacts d'agriculteurs et m'ont organisé des sorties de terrain : Gilles Sanchez d'Agroservice, Anne Staquet de l'EPLFPA, Caroline Varin et Richano Wongsodjiwo du GDA, Elise Levasseur de la PFFLG, Ly Gao Lugnia du SEA de Cacao, Alain Dizout de la chambre d'agriculture, Alexis Glazer des JA973, Marc Rozan de l'APAPAG, Elodie Brunstein de Solicaz

A Luc Lebreton, pour son encadrement, ses coups de pouces stratégiques pour faire avancer les démarches administratives

A Damien Laplace, la mémoire bibliographique du SALIM, pour les précieuses informations qu'il m'a aidé à retrouver

A Pierre Bouteiller pour son encadrement et ses contacts de terrains

Merci beaucoup à Frédéric Biro (chef de culture au lycée de Matiti) pour la mise en place de l'expé solarisation qui n'a pas été de tout repos et aussi pour toutes les réponses qu'il a su apporter à mes questions techniques

A Aubéri Petite pour la transmission des données d'expérimentation déjà existantes

A Jean Guyot pour son encadrement

A Guyasem, Agroservice et Mme Deschamps qui ont bien voulu nous fournir des semences pour l'expérimentation variétale.

Un grand merci à Jocelyn Cazal de l'UMR Ecofog pour son aide sans laquelle l'expérimentation variétale n'aurait pas pu être possible.

Un grand merci à Jean-Yves Goret (UMR Ecofog) qui m'a prêté et aidé à installer les sondes météorologiques sur l'expé. solarisation.

Un grand merci à Eliane Louisanna (UMR Ecofog) qui m'a gentiment aidé dans l'utilisation du labo de l'agrocampus de Kourou

A Stéphane Traissac de l'UMR Ecofog pour son accueil des premiers jours, pour m'avoir facilité les démarches pratiques du stage et m'avoir aiguillé vers les bonnes personnes

Merci beaucoup à Régine Coranson-Beaudu et Péninna Deberdt du CIRAD-PRAM de la Martinique qui m'ont accueillie pour l'analyse génétique des souches. Merci à Régine pour la transmission des savoir-faire et à Péninna pour le regard critique porté sur le rapport

Merci à Emmanuel Wicker (CIRAD de la Réunion) pour ses échanges d'informations qui ont alimenté la discussion de mes résultats

A tous mes collègues avec qui j'ai passé de bons moments pendant le stage, Monique, Jérôme, Florent, Lionel et à Mario pour m'avoir aidé à trouver des contacts d'agriculteurs

Enfin, un très grand merci à Francis Vigné de la FREDON qui m'a accompagné du début à la fin du stage. Merci de m'avoir fait profiter de ses connaissances sur les maladies, de son aide lors des déplacements terrain et lors de la mise en place de chacune des expérimentations.



# TABLE DES MATIERES

<b>1. INTRODUCTION .....</b>	<b>6</b>
<b>2. RALSTONIA SOLANACEARUM, AGENT CAUSAL DU FLETRISSEMENT BACTERIEN .....</b>	<b>7</b>
A. <i>R. SOLANACEARUM</i> , UN COMPLEXE D'ESPECE A GRANDE VARIABILITE .....	7
i. <i>L'ancienne classification basée sur des traits trophiques</i> .....	7
ii. <i>Le nouveau système</i> .....	8
iii. <i>La comparaison avec l'ancien système</i> .....	9
iv. <i>La menace du séquévar émergent</i> .....	10
B. EPIDEMIOLOGIE.....	11
i. <i>Symptômes et mécanismes infectieux</i> .....	11
ii. <i>Les facteurs environnementaux impactant l'agressivité et la dissémination de l'agent R. solanacearum</i> 12	
C. DES METHODES DE LUTTE PEU EFFICACES.....	14
i. <i>Une lutte chimique inefficace</i> .....	14
ii. <i>Une lutte biologique à l'essai</i> .....	15
iii. <i>La lutte génétique, la plus efficace à ce jour</i> .....	15
<b>3. LE CONTEXTE AGRICOLE GUYANAIS.....</b>	<b>15</b>
A. UN CLIMAT ET DES SOLS PROPICES AU DEVELOPPEMENT DU PATHOGENE.....	16
B. LE SECTEUR AGRICOLE EN GUYANE .....	17
i. <i>Une agriculture jeune et de nombreux échecs passés</i> .....	17
ii. <i>Une faible structuration du secteur et des agriculteurs peu professionnalisés</i> .....	18
iii. <i>La filière légumes frais de la Guyane</i> .....	18
iv. <i>Des défis à relever</i> .....	20
C. HISTORIQUE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN GUYANE .....	20
<b>4. LES OBJECTIFS DE L'ETUDE.....</b>	<b>21</b>
A. APPROFONDIR LES CONNAISSANCES GENETIQUES SUR LA POPULATION DE L'AGENT <i>R. SOLANACEARUM</i> DE GUYANE	21
B. DIAGNOSTIQUER LE DANGER INHERENT AUX PRATIQUES .....	22
C. PROPOSER DES SOLUTIONS .....	22
<b>5. MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>22</b>
A. DELIMITATION DE LA POPULATION D'AGRICULTEURS A ENQUETER.....	22
B. ENQUETE APPROFONDIE SUR LES PRATIQUES DES AGRICULTEURS .....	23
C. TYPOLOGIE DES ITK .....	24
D. PHYLOTYPAGE DES SOUCHES DE L'AGENT <i>R. SOLANACEARUM</i> .....	25
i. <i>Echantillonnage et isolement des souches de l'agent R. solanacearum</i> .....	25
ii. <i>Phylogénétique des souches de l'agent R. solanacearum</i> .....	26
iii. <i>Analyse statistique des résultats du phylotypage</i> .....	27
E. CRIBLAGE VARIETAL.....	27
i. <i>Choix des variétés</i> .....	27
ii. <i>Dispositif expérimental</i> .....	28
iii. <i>Inoculation</i> .....	29
iv. <i>Suivi de l'expérimentation</i> .....	29
v. <i>Traitement statistique des données</i> .....	30
F. ESSAI DE SOLARISATION .....	30

i.	<i>Choix des modalités</i> .....	30
ii.	<i>Dispositif expérimental</i> .....	31
iii.	<i>Données enregistrées</i> .....	31
iv.	<i>Traitement statistique</i> .....	32
<b>6.</b>	<b>RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	<b>32</b>
A.	TYPOLOGIE DES PRATIQUES AGRICOLES MARAICHÈRES .....	32
i.	<i>Le choix des variables discriminantes</i> .....	32
ii.	<i>L'établissement statistique de la typologie</i> .....	34
iii.	<i>La typologie</i> .....	35
iv.	<i>La répartition géographique des groupes</i> .....	39
v.	<i>Quelques éléments déterminants les stratégies adoptées par les agriculteurs</i> .....	40
vi.	<i>Limites et perspectives</i> .....	42
B.	CARACTERISATION MOLECULAIRE DES SOUCHES DE GUYANE.....	45
i.	<i>Caractéristiques générales de la population isolée</i> .....	46
ii.	<i>Distribution géographique</i> .....	46
iii.	<i>Distribution selon l'hôte</i> .....	47
iv.	<i>Distribution selon le précédent cultural et la présence de bananiers</i> .....	47
v.	<i>Discussion</i> .....	48
vi.	<i>Les conclusions pratiques de l'étude</i> .....	50
C.	ESSAI DE CIBLAGE VARIETAL.....	51
i.	<i>L'incidence de la maladie expliquée statistiquement</i> .....	51
ii.	<i>Comparaison des taux de flétrissement et de colonisation</i> .....	52
iii.	<i>Evaluation de la gamme de réponses des variétés envers les souches inoculées</i> .....	54
iv.	<i>Limites et perspectives</i> .....	55
D.	ESSAI D'ASSAINISSEMENT PAR LA SOLARISATION.....	56
i.	<i>L'effet du recouvrement plastique sur le sol et du fumier sur les températures du sol</i> .....	56
ii.	<i>Des températures assez élevées ?</i> .....	58
<b>7.</b>	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>60</b>
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>61</b>
<b>9.</b>	<b>ANNEXES</b> .....	<b>64</b>

# 1. Introduction

L'agent *R. solanacearum* est une bactérie pathogène du sol qui cause la maladie du flétrissement bactérien. C'est en pénétrant par les racines que l'agent *R. solanacearum* infecte la plante hôte. Elle migre ensuite tout en se multipliant vers la partie supérieure de la plante par le xylème. Ce faisant elle obstrue celui-ci et altère le processus de nutrition de la plante par le dysfonctionnement des vaisseaux. Les symptômes externes se manifestent par un flétrissement et jaunissement des feuilles puis par la perte irrémédiable du plant en une dizaine de jours (Buddenhagen, 1964).

Les dégâts que cause cet agent pathogène sont considérables pour plusieurs raisons. D'une part, la présence de ce pathogène dans le sol conduit souvent à une perte de rendement importante voire à l'impossibilité de cultiver les espèces les plus sensibles en régions tropicales comme tempérées. A titre d'exemple, dans le bassin amazonien du Pérou, environ la moitié des plantations de bananier était affectée dans les années 1960 et la dissémination rapide du pathogène menaçait de détruire toutes les plantations de la forêt péruvienne (French *et al.*, 1968). En Inde, la maladie cause de manière récurrente une perte de rendement allant de 50 à 75% dans certaines régions (Shekhawat *et al.*, 1987).

D'autre part, plusieurs souches de ce pathogène (appelées races et biovars) peuvent infecter pas moins de 250 espèces botaniques (Hayward, 1991). Parmi ce très large spectre d'hôtes, se retrouvent des espèces d'importance économique mondiale comme la tomate, l'aubergine, la pomme de terre, la banane ou encore le tabac. D'autres espèces mineures comme le gingembre, l'anthurium ou le murier, sont également affectées (Buddenhagen *et al.*, 1962) (He *et al.*, 1983) (Pegg *et al.*, 1971).

L'agent *R. solanacearum* est un pathogène réparti sur tous les continents avec des variations de distribution en fonction de la race considérée. (Voir cartes en annexe 1, CAB international 2011). Les échanges internationaux s'en trouvent fortement limités dans leurs dynamiques puisque l'agent *R. solanacearum* est reconnu comme organisme de quarantaine par l'organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes (OEPP), la commission phytosanitaire pour l'Asie et le Pacifique (APPPC) et le Conseil Phytosanitaire Interafricain de l'Union africaine (APSC)

En Guyane, les dégâts causés par l'agent *R. solanacearum* sont d'autant plus graves que le climat, chaud pluvieux et humide est propice au développement et à la propagation de la bactérie. Les maraîchers souhaitant développer les cultures de solanacées en particulier, d'aubergine, tomate et poivron connaissent de grandes difficultés. Ainsi les surfaces de production de ces trois espèces sont maintenues très basses et ne suffisent pas à la demande du marché local.

Cela conduit à s'interroger sur les difficultés inhérentes à la culture de ces espèces dans le contexte guyanais. Les causes à cela sont à priori diverses. Il s'agit de difficultés de maîtrise technique, phytosanitaire ou de contraintes liées au sol et au climat. Toutefois, le problème récurrent du flétrissement bactérien semble être l'obstacle majeur à l'essor de ces cultures en plein champ.

Ainsi, l'étude menée pendant ce stage vise avant tout à une meilleure connaissance du terrain, tant au niveau des pratiques culturelles des agriculteurs maraîchers (producteurs de tomate, aubergine et poivron) que de la caractérisation locale du pathogène, nécessaires comme préalable à toute action de développement qui pourrait être menée par la suite. Le problème global posé est de savoir comment améliorer la lutte contre le flétrissement bactérien. Dans le contexte guyanais beaucoup de données basiques sont manquantes sur la description des systèmes maraichers.

Aussi, dans un premier temps, on cherchera à collecter des données pour caractériser selon une typologie les pratiques agricoles dangereuses quant à la propagation de la maladie dans l'exploitation. Une étude bibliographique préalable et les premières visites de terrain permettront de faire les hypothèses nécessaires aux choix des critères pris en compte dans la typologie. En parallèle, il sera mené un travail d'échantillonnage de l'agent *R. solanacearum* afin d'en déterminer la diversité génétique puis de l'expliquer selon des critères pertinents. Enfin, dans l'optique de proposer des méthodes de lutttes efficaces dans le contexte guyanais, un test de pathogénicité de souches de *R. solanacearum* isolées en Guyane sur plusieurs variétés sera effectué ainsi qu'une expérience d'assainissement du sol par solarisation.

## **2. *Ralstonia solanacearum*, agent causal du flétrissement bactérien**

L'agent *R. solanacearum* est une phyto bactérie de type bacillaire gram négative appartenant à la famille des pseudomonadacées, Il s'agit d'une bactérie tellurique aérobie stricte qui possède des flagelles polaires lui permettant une mobilité dans le sol.

### **a. *R. solanacearum*, un complexe d'espèce à grande variabilité**

L'agent *R. solanacearum* présente une très grande variabilité génétique, phénotypique et pathogénique. De récents travaux basés sur l'analyse génétique ont permis de proposer un modèle de classification phylogénétique robuste de l'agent *R. solanacearum*. Cependant il n'en a pas toujours été ainsi. En effet, l'ancienne classification de l'agent *R. solanacearum* est basée sur des caractéristiques phénotypiques et est toujours utilisée comme repère par les scientifiques.

#### **i. L'ancienne classification basée sur des traits trophiques**

Historiquement, les souches de l'agent *R. solanacearum* ont été classées en 5 races et 6 biovars. L'appartenance à une race est basée sur la capacité de la souche à infecter ou non un type d'hôte (Buddenhagen *et al.*, 1962) (He *et al.*, 1983) (Pegg *et al.*, 1971).

La race 1 entraîne le flétrissement d'une large gamme d'hôte de la famille des solanacées. Elle attaque entre autres les aubergines, tomates, tabacs, l'arachide, les bananiers diploïdes et d'autres adventices solanées, les hibiscus, des arbres comme l'eucalyptus, des

espèces à fleur comme l'anthurium ou le dahlia, etc. La race 1 est présente sur tous les continents, exceptés en Union Européenne (annexe 1).

La race 2 est l'agent causal de la maladie de Moko sur bananiers triploïdes (à cuire et dessert). Elle est également pathogène des *Héliconias*. Elle est surtout présente dans l'arc caribéen, en Amérique centrale et dans les Philippines (annexe 1).

Contrairement aux races 1 et 2 qui ont leur optimum de croissance à des températures élevées (autour de 35°C), la race 3 s'établit plutôt dans des milieux tempérés et a un développement optimal aux alentours de 27°C (Álvarez *et al.*, 2010). Elle provoque également la pourriture brune de la pomme de terre et le flétrissement bactérien de la tomate, de l'aubergine, du géranium. La race est largement répandue sur les 5 continents (annexe 1).

Les races 4 et 5 sont plus spécialisées et attaquent respectivement le gingembre et le mûrier.

Les biovars sont déterminés par le profil métabolique des souches sur la base de tests d'oxydation et d'utilisation d'hexoses ou de disaccharides (Hayward, 1995). La classification en biovars est basée sur des caractéristiques phénotypiques et ne convient pas à des visées de classification.

De plus la classification en biovars ne se recoupe pas avec celle des races. Le fait que les différents biovars ne soient pas spécifiques d'une race rajoute de la confusion au système race/biovar (cf. tableau n°1). De récents travaux ont montré que la classification en race est également fragile. Un test de pathogénicité d'une collection de l'agent *R. solanacearum* a révélé que la race attribuée à plusieurs souches ne correspondait pas à la diversité des pathoprofiles (profil correspondant à la capacité de la souche d'infecter ou non plusieurs variétés considérées) effectivement observés (Lebeau *et al.*, 2011).

Races	Hôtes	Biovars
1	Large spectre: solanacée, tabac, arachide, bananier (diploïde)	1, 3, 4,
2	bananier (triploïde) et autre <i>Musa</i> spp.	1
3	pomme de terre et tomate en régions tempérées	2 (ou 2A, 2T)
4	Gingembre	3, 4
5	Mûrier	5

**Tableau 1** Caractéristiques des races de l'agent *R. solanacearum* et leurs liens aux biovars (Buddenhagen *et al.*, 1962 ; He *et al.*, 1983, Pegg et Mofett 1971)

## ii. Le nouveau système

L'actuel système de classification de l'agent *R. solanacearum* repose sur des méthodes moléculaires qui montrent que *R. solanacearum* réunit un groupe de bactéries présentant une grande diversité génétique. *R. solanacearum* est qualifiée de complexe d'espèces, c'est à dire « un cluster d'isolats très proches génétiquement et regroupant plus d'une espèce » (Fegan & Prior, 2005). On y retrouve ainsi deux organismes très proches mais d'espèces différentes, qui appartiennent au complexe *R. solanacearum* selon l'analyse de séquence de l'ADNr 16S. Il



s'agit de *Pseudomonas Syziggi*, agent causal de la maladie de Sumatra des girofliers et de *Pseudomonas Celebencis* (ou Blood disease bacterium) qui cause la maladie de sang des bananiers en Inde (Fegan & Prior, 2005).

Fegan et Prior proposent un schéma de classification basé sur le regroupement des souches en groupes monophylétiques, appelés phylotypes, définis par l'analyse phylogénétique des séquences de 3 portions d'ADN :

- La région intergénique 16S-23S (ITS), très conservé au sein des espèces et dont le degré de variabilité entre souches permet d'évaluer leur degré de parenté.

- Le gène *hrpB*, régulateur du gène *hrp* (hypersensitive reaction and pathogenicity) impliqué dans le déclenchement de réactions de pathogénicité ou d'hypersensibilité (réaction de défense) chez les plantes attaquées par le pathogène.

- Le gène *egl* qui code pour la synthèse d'une enzyme, l'endoglucanase, aussi impliquée dans les processus de pathogénicité.

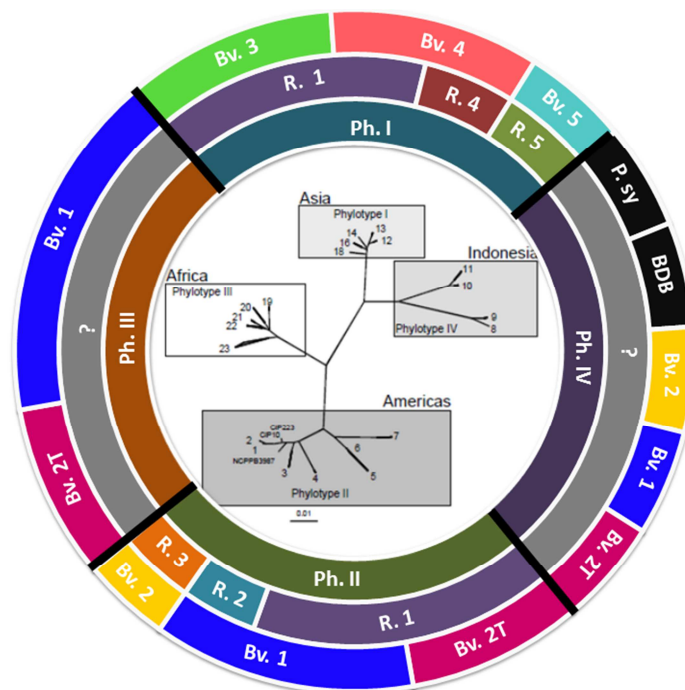
Chaque phylotype peut être divisé en séquévars qui sont des groupes réunissant des souches possédant une portion hautement conservée du gène *egl* (<1% de variation).

A ce jour, quatre phylotypes ont été déterminés et 51 séquévars (Prior & Fegan, 2008 unpublished). Les phylotypes reflètent l'origine géographique des souches. Le phylotype I comprend des souches originaires d'Asie. Le phylotype II regroupe des souches venant d'Amérique. Il comprend, entre autres, les souches de l'agent *R. solanacearum* responsables de la maladie de moko qui sont classées dans les séquévars 3, 4, 6 ou 24. Le phylotype III contient les souches provenant d'Afrique et des îles avoisinantes. Enfin, le phylotype IV contient les souches prélevées en Indonésie, Australie et Japon. Les bactéries BDB et *P. syzygii* appartiennent à ce phylotype.

### iii. La comparaison avec l'ancien système

Les souches appartenant à des races définies de manière large se retrouvent dans plusieurs phylotypes. C'est le cas de celles de la race 1 se retrouvant dans les phylotypes I et II. A l'inverse les souches de la race 4 et 5 à hôte spécifique se retrouvent dans un seul phylotype à la fois.

Ce nouveau schéma de classification est plus à même de rendre compte de la grande variabilité phénotypique (pathogénicité, origine géographique) observée chez l'agent *R. solanacearum*. Il pourra également s'enrichir pour refléter la variabilité génétique du complexe découverte au fur et à mesure de l'avancé de l'exploration des souches réparties dans le monde et encore peu étudiées (comme celles d'Afrique).



**Figure 1** Relation entre les 2 classifications. Dendrogramme basé sur l'analyse de la séquence *egl* (Fegan et Prior, 2005). Les chiffres indiquent les séquévars. Bv: biovar, R: race, Ph: phylotype

#### iv. La menace du séquévar émergent

En Martinique, l'agent causal du flétrissement était traditionnellement de phylotype I et II comme le montre les campagnes de prélèvement effectuées depuis les années 1960 sur l'île (Wicker *et al.*, 2009). En 1999, le flétrissement sévère de plantations d'anthurium a révélé l'existence d'un séquévar de phylotype II encore jamais observé en Martinique baptisé séquévar 4NPB pour « non pathogenic to banana ». Il s'agit en effet de souches qui ont un lien de parenté très proche avec les souches responsables de la maladie de moko mais cependant avirulentes sur des bananiers de type cavendish. Ce dernier n'est pas hôte de la bactérie mais le bananier plantain peut lui, être un hôte asymptomatique et constituer un vrai réservoir d'inoculum. (Wicker *et al.*, 2007)

De plus, des tests de pathogénicité supplémentaires (Wicker *et al.*, 2009) ont montré que les souches de phylotypeII/séquévar4NPB sont encore plus agressives sur des solanacées d'importance économique comme la tomate, l'aubergine ou la pomme de terre. Elles ont également un spectre d'hôte élargi aux cucurbitacées et plantes ornementales de type *heliconia spp.*

L'origine des souches de phylotypeII/séquévar4NPB reste inconnue mais il peut s'agir de souche Moko qui ont perdu leur virulence sur bananier en acquérant une virulence sur d'autres hôtes comme de souches qui n'ont jamais acquis un caractère virulent contre les bananiers. Elles pourraient aussi représenter un groupe 'primitif' des souches moko, au sein duquel certaines souches ont évolué en acquérant des facteurs de virulence sur bananier (Wicker *et al.*, 2009).

En Martinique, les surfaces de bananeraies sont élevées (environ 25% de la SAU des exploitations agricoles, mémento de la statistique agricole, Agreste 2010) et représentent autant de réservoirs d'inoculum. Wicker a d'ailleurs observé qu'un précédent cultural en

bananier favorisait la présence du phylotypeII/séquovar4NPB sur les cultures suivantes (Wicker *et al.*, 2009). La plasticité du génome de l'agent *R. solanacearum* fait que l'acquisition du caractère pathogène sur musa de ces souches représente un réel danger. Ainsi, les caractéristiques de cette souche font qu'un potentiel changement dans les pratiques agricoles (surtout variété et rotation) peut être nécessaire afin de continuer à cultiver de manière pérenne des solanacées, cucurbitacées ou musacées. Si l'épidémiologie du phylotypeII/séquovar4NPB est bien connue en Martinique, son importance en Guyane reste une question à poser. L'objet de ce stage est en partie d'y répondre.

## b. Epidémiologie

### i. Symptômes et mécanismes infectieux

L'agent *R. solanacearum*, pathogène tellurique, se déplace grâce à ses flagelles polaires vers ses hôtes potentiels. Elle est notamment guidée par des phénomènes de chimiotactisme impliquant les molécules d'exsudats racinaires. Elle colonise la rhizosphère des plantes hôtes puis y pénètre par les blessures des racines. Celles-ci peuvent-être causées par des facteurs naturels comme la naissance d'une racine latérale qui déchire l'épiderme, par l'attaque de ravageurs du sol ou par des outils.

Une fois pénétrée, elle migre vers les vaisseaux du xylème où elle se multiplie activement puis se répand dans les vaisseaux jusqu'à la partie supérieure de la plante. Le cocktail de facteurs de virulence sécrétés par la bactérie (enzyme pectolytique, endoglucanase, etc) va aider à la dégradation des tissus et à sa progression vers les tissus adjacents au xylème: les vaisseaux du phloème, le parenchyme et les jeunes tissus corticaux (Buddenhagen, 1964).

La destruction des vaisseaux et la formation de thylls entraînent un dysfonctionnement de la circulation des nutriments et de l'eau dans la plante. Cependant, la cause principale de l'obstruction des vaisseaux reste la synthèse de polysaccharides par la bactérie qui l'entourent d'un film visqueux et empêche la circulation de l'eau.

De manière générale, cette cascade de réactions provoque le brunissement des vaisseaux. Les symptômes externes se manifestent par l'écoulement d'un exsudat de bactéries des tiges coupées. Un flétrissement des feuilles évoluant jusqu'au dessèchement irréversible de la plante en quelques jours. Des phénomènes d'épinastie (feuille courbée vers le bas) visibles sur les feuilles sont également provoqués par l'auxine synthétisée en trop par la plante ou le pathogène. (Buddenhagen, 1964).

Les symptômes sur tomates, aubergines et poivrons (TAP) sont similaires. Ils peuvent se manifester à tous les stades de développement de la plante avec une plus grande occurrence d'apparition lors du stade floraison (Hayward, 1991). Ils sont beaucoup plus tranchés pour les jeunes stades des TAP. Il est plus difficile d'attribuer sans ambiguïté les symptômes du flétrissement sur un plant d'aubergine âgé à l'agent *R. solanacearum* car ils sont semblables à d'autres maladies fongiques (fusariose ...). Les symptômes commencent à se manifester par les phénomènes d'épinastie et de perte de turgescence sur les plus jeunes feuilles au moment de fortes chaleurs de la journée. Au début, la plante semble reprendre son aspect normal lorsque la température diminue mais les conditions chaudes de la journée vont favoriser le rapide flétrissement de toute la plante. Les feuilles restées vertes jusqu'alors commencent à

jaunir et la plante se dessèche rapidement. L'apparition de racines adventices est également signe d'une infection par l'agent *R. solanacearum*, mais cela est surtout le cas pour la tomate.



**Figure 2 symptômes de flétrissement bactérien sur tomate, aubergine et piment chez des agriculteurs de Guyane.**

## ii. Les facteurs environnementaux impactant l'agressivité et la dissémination de l'agent *R. solanacearum*

### LE STADE DORMANCE

La bactérie présente un état physiologique de résistance qui lui permet de survivre lorsque les conditions du milieu deviennent extrêmes. Il est déclenché par différents facteurs de stress comme la diminution drastique de température. A la longue, les bactéries à l'état de dormance peuvent perdre leur pathogénicité. L'état de dormance est certainement impliqué dans la survie prolongée de l'agent *R. solanacearum* dans l'eau, le sol et le matériel végétal. La bactérie peut repasser de son état de dormance à l'état physiologique actif et pathogène. (Coutinho *et al.*, 2005) (Armeflhor Réunion, 2007).

### LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL

La durée de survie de *R. solanacearum* dans un sol cultivé peut être de plusieurs années. Des études (Álvarez *et al.*, 2010) ont montré qu'elle pouvait être détectée dans le sol jusqu'à un an après élimination de toute culture hôte dans la parcelle avec un herbicide.

La capacité de l'agent *R. solanacearum* à survivre longtemps dans le sol est surtout due au fait qu'elle colonise les résidus de culture et autres débris organiques du sol où elle se maintient. La survie dans des couches profondes (75 cm) du sol est aussi un facteur explicatif. Elle pourrait être favorisée par les faibles fluctuations de température et la moindre compétition avec d'autres microorganismes du sol (Graham *et al.*, 1979).

Le sol est la source majeure d'inoculum de l'agent *R. solanacearum* et il influence aussi son agressivité. En effet, certains sols sont plus réceptifs que d'autres et confèrent une plus forte agressivité à l'agent *R. solanacearum*. Par exemple, la bactérie contamine facilement et perdure longtemps dans les sols ferralitiques. En revanche, les vertisols calcaïques sont peu réceptifs (Blancard, 2009).

Les pH acide (5-6) de même qu'une humidité et une température élevées du sol favorisent la multiplication et la dissémination du pathogène.

La teneur en azote a également un rôle sur le degré d'expression de la maladie. Des expériences ont montré qu'un apport important en azote diminuait l'expression du flétrissement bactérien. L'apport de matières organiques telles que le compost, le fumier ou le lisier réduit également le flétrissement (Prior *et al.*, 1989) (Yadessa *et al.*, 2010) (Vincent *et al.*, 1998) (Schönfeld *et al.*, 2003).

Enfin le type d'engrais chimique apporté joue également sur le développement de *R. Solanacearum*. En effet, Vincent et Schönfeld montrent qu'un apport d'urée peut diminuer la concentration de l'agent *R. solanacearum* dans certaines conditions. Cela est dû à la synthèse de nitrite par les bactéries nitrifiantes du sol, composé toxique pour *R. solanacearum*. A l'inverse, un apport de nitrate favorise le développement de *R. solanacearum* qui est une bactérie dénitrifiante et utilise ce substrat comme source d'énergie.

## L'EAU

L'eau est un réservoir de choix pour la conservation et la dissémination de la bactérie. Elle s'y conserve pendant plusieurs mois (Prior *et al.*, 1989). L'eau peut être contaminée par des rejets d'eaux de drainage ayant irrigué des parcelles contaminées par le flétrissement. Des rejets industriels ou domestiques peuvent également être source de contamination de l'eau.

En plein champ, les épisodes pluvieux, les sols gorgés d'eau favorisent la dissémination de la bactérie dans le sol. En hors sol, la non séparation entre le circuit d'eau de drainage et les racines des plantes favorise l'infection généralisée à tous les plants en permettant le passage de l'inoculum d'une plante à une autre. (Armefflor Réunion, 2007)

## LE MATERIEL VEGETAL (Y COMPRIS SEMENCE VRAIE)

Le matériel végétal échangé est la cause principale de la dissémination mondiale du pathogène. L'échange de tubercules de pomme de terre infectés mais asymptomatiques y a contribué. De même pour les échanges de plantes ornementales, de plants de banane, ou autres plantes hôtes asymptomatiques ou infectées de manière latente (Coutinho *et al.*, 2005). Cela est aussi vrai à l'échelle locale d'un pays et la qualité sanitaire de production d'un plant à une importance capitale dans la prévention de la dispersion de la maladie.

Certains travaux montrent que même les semences peuvent être vectrices de contamination si elles sont récoltées sur des plants infectés (Poussier, 2000). Cependant, ce résultat n'est pas admis par tous dans la littérature (Marins *et al.*, 2005) (Sanchez Perez *et al.*, 2008).

## LES INTERACTIONS AVEC D'AUTRES BIOAGRESSEURS

### Les mauvaises herbes

Certaines mauvaises herbes sont sensibles au flétrissement bactérien et peuvent participer au renouvellement de la population de l'agent *R. solanacearum* si elles ne sont pas éliminées de la parcelle avant infection. D'autres adventices peuvent être des hôtes sains de la bactérie. Celle-ci est présente dans les tissus de la plante mais il n'y a pas de réaction de pathogénicité. Ainsi, même en l'absence de symptôme visible, la présence de mauvaises herbes sur la parcelle peut contribuer au maintien de l'inoculum dans l'adventice elle-même ou dans sa rhizosphère.



## Les insectes et nématodes

Les insectes volants ont un rôle dans la dissémination passive de la maladie, uniquement dans le cas de la maladie de moko en propageant l'inoculum. Les blessures causées par les nématodes à galle (*Meloidogyne incognita*) au niveau des racines sont des portes d'entrée supplémentaires qui facilitent la colonisation du système racinaire par la bactérie. De même, la dégradation des tissus provoquée par le nématode favorise sa progression dans les tissus (Deberdt *et al.*, 1999).

### LA TRANSMISSION MECANIQUE

L'action de l'homme peut favoriser la dissémination de la bactérie par transport de terre, plants, outils, etc. contaminés d'un endroit à un autre, par les actions culturales menées sur le peuplement végétal qui peuvent le fragiliser (repiquage, binage, etc.).

### LA TRANSMISSION PAR CONTACT

Une fois infectée, la plante peut exsuder des bactéries par les racines. Cela alimente la quantité d'inoculum dans le sol. Il est préférable d'arracher les plants contaminés ou de favoriser les faibles densités pour éviter la contamination de racines à racines d'un plant à l'autre.

## c. Des méthodes de lutte peu efficaces

### i. Une lutte chimique inefficace

Les moyens de lutte chimique existants afin de lutter contre *R. solanacearum* sont peu efficaces. L'utilisation de la javel (sous certaines formes) comme assainisseur d'eau est autorisé et a été mis en place à la Réunion dans le cas de cultures hors sol (Arneflhor Réunion, 2007). Des fumigants du sol comme le metam-sodium ou l'oxamyl montrent une efficacité relativement importante sur l'éradication temporaire de la maladie. (Saddler, 2005) Cependant, ces produits provoquent beaucoup d'effets indésirables et sont dangereux pour l'équilibre de la biodiversité des sols ([www.e-phy.com](http://www.e-phy.com)).

Les fumigants associés à la solarisation sont encore plus efficaces. Cette dernière technique utilisée seule prouve aussi son efficacité (Gorissen, Van Overbeek, & Van Elsas, 2004) (Schönfeld *et al.*, 2003). L'utilisation d'herbicides et de nématicides limite l'interaction positive avec *R. solanacearum* et diminue les potentiels puits d'inoculum.

L'efficacité de ces techniques est très variable. Elle dépend de beaucoup de facteurs physico-chimiques du sol et climatiques qui font que dans bien des cas la lutte chimique se révèle d'une efficacité faible et peu durable.

## ii. Une lutte biologique à l'essai

La lutte biologique en est au stade de la mise au point en laboratoire. De récentes études ont montré l'existence de bactéries antagonistes à l'agent *R. solanacearum* comme *P. fluorescens*, *Bacillus subtilis* ou même des souches de l'agent *R. solanacearum* avirulentes (Hayward, 1991) (Saddler, 2005). Ces bactéries occupent les mêmes niches écologiques que l'agent *R. solanacearum* et entrent en compétition avec elle. Les expériences sont significatives en laboratoire mais l'efficacité en plein champ n'est pas prouvée. D'autres études sur le potentiel assainissant de plantes de services d'interculture et l'effet antimicrobien de leurs extraits végétaux sont en cours (PRAM-CIRAD Martinique).

## iii. La lutte génétique, la plus efficace à ce jour

A ce jour, le développement d'une résistance durable et universelle au flétrissement bactérien n'a pas encore abouti et le sera difficilement. Plusieurs causes à cela :

- la grande variabilité génétique au sein du complexe d'espèces fait qu'obtenir une plante résistante à toutes ou partie des souches est difficile,
- la constante émergence de nouvelles souches de l'agent *R. solanacearum* du fait de la grande plasticité de son génome peut rapidement rendre caduque les gènes de résistance développés par le passé,
- La forte interaction plante-pathogène-environnement rend souvent inefficace l'expression des gènes de résistance de la plante,
- Le déterminisme polygénique de la résistance fait qu'il n'est pas possible de trouver des résistances totales mais seulement quantitatives (Wang *et al.*, 1998) (Lebeau *et al.*, 2011).

En France, plusieurs variétés résistantes ont été créées. Pour la tomate, on peut citer les variétés Calinago et Caraibo qui tiennent leurs gènes de résistance de *Lycopersicum esculentum*. La variété Hawaii7996 est issue de croisement avec la variété résistante *L. pimpinelliform*. Pour l'aubergine, la variété résistante Kalenda a été mise au point par l'INRA.

## 3. Le contexte agricole guyanais

La Guyane est le seul territoire français du continent américain. Elle est le plus grand département français et représente 1/6e de la superficie de la France métropolitaine avec ses 84 000 km<sup>2</sup>.

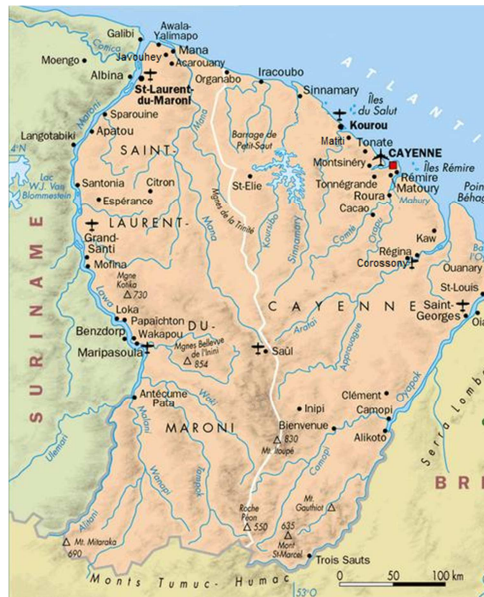


Figure 3 Carte de la Guyane française

### a. Un climat et des sols propices au développement du pathogène

Le climat guyanais est de type équatorial humide. L'humidité relative moyenne est élevée, entre 80 et 90%, selon la saison. Les températures élevées varient peu et se situent en moyenne à 27°C.

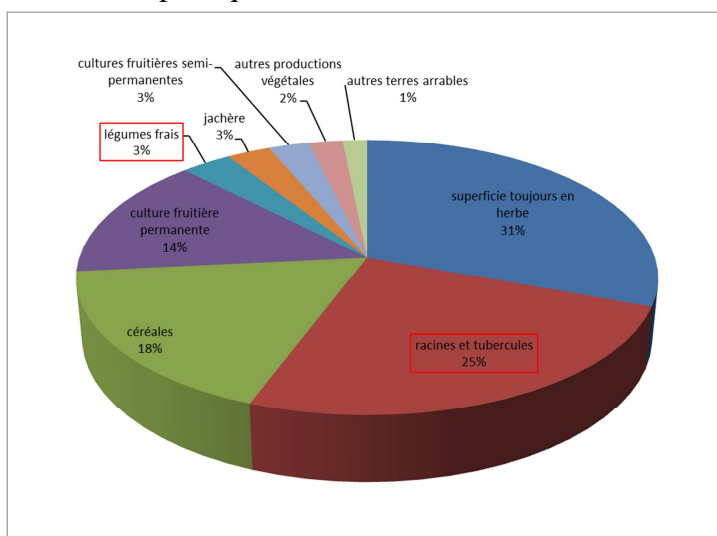
Les pluies sont importantes et varient de manière conséquente dans l'année. En moyenne, 3000 mm de pluie tombent dans l'année. Elles impriment le rythme saisonnier suivant au climat : De mi-novembre à mi-février, la petite saison des pluies. La pluie débute de manière douce en novembre pour s'intensifier courant janvier. Dès février on note une diminution marquée des précipitations. De mi-février à mars, le petit été de mars correspond à une accalmie des pluies pour la Guyane. Les journées sont très ensoleillées. Dès le mois d'avril, la Guyane subit, pendant la grande saison des pluies, des averses abondantes jusqu'au mois d'août au cours duquel seules quelques pluies éparses persistent. Enfin de mi-août à mi-novembre, les pluies laissent place à la grande saison sèche. La Guyane reçoit un air sec et les journées sont très ensoleillées. De rares pluies persistent tout de même.

En ce qui concerne la pédologie (annexe 3), la grande majorité des sols est de nature ferralitique ou podzolique (forte teneur en sable). Les sols guyanais ont en général une fertilité chimique basse, un pH acide compris entre 4 et 5 et une faible capacité d'échange cationique. Pour assurer la pérennité d'une agriculture sédentaire, l'apport d'amendements de fumures voire d'oligo-éléments sont nécessaires. La prépondérance des sols ferralitiques en Guyane est l'un des facteurs pouvant expliquer l'importance du flétrissement bactérien puisqu'ils sont connus comme étant très réceptifs à la maladie.

## b. Le secteur agricole en Guyane

La forêt occupe 90% du territoire guyanais et sa SAU est estimée à 23 300 ha en 2007 (DAAF, SRISE 2007). En 2006, les prairies pâturées, les fourrages et céréales (riz presque exclusivement) occupent la moitié de la SAU, viennent ensuite les cultures de tubercules et racines puis les cultures fruitières (cf. figure 4).

Le marché des fruits et légumes en Guyane est estimé à 76 625 tonnes et 108 millions d'euros, il est couvert à 80% par la production locale (ODEADOM, 2009). En terme de valeur les principales productions de la Guyane sont les cultures légumières s'élevant à 34,4M€ alors qu'elles n'occupent que 3% de la SAU. Les fruits viennent en deuxième position.



**Figure 4 Répartition des différentes productions végétales dans la SAU totale (23 235ha) en 2007, source : Agreste**

### i. Une agriculture jeune et de nombreux échecs passés

L'agriculture telle qu'on la connaît aujourd'hui fait suite à un long passé de tentatives avortées de lancement d'une agriculture conventionnelle à l'image de celle de la métropole. Avant les années 1970, de nombreux échecs peuvent être cités presque tous basés sur une volonté de lancer l'agriculture grâce à l'immigration de populations.

Par exemple, le plan vert lancé dans les années 1980 a planifié l'immigration de population pour lancer l'agriculture en Guyane. Il s'agit notamment de hmongs réfugiés du Laos installés de 1977 à 1988 à Cacao, Javouhey, Régina et dans la commune d'Iracoubo. A l'origine, ils commencèrent à cultiver du riz mais vite concurrencés par les importations bon marché du Surinam ils se sont tournés vers l'arboriculture et le maraîchage. Aujourd'hui, les hmongs sont les principaux maraîchers de la Guyane.

Le plan vert a conduit à la mise en place d'instituts de recherche, coopératives, de groupements d'agriculteurs, etc., conçus pour passer d'une agriculture traditionnelle (abattis) à moderne. Dès la fin des années 1980, c'est la crise générale : fermeture de plusieurs des coopératives, de CUMA, etc. L'arrêt du financement du secteur agricole par l'état met les agriculteurs en grande difficulté, sur 200 exploitations créées, seules 30 étaient jugées rentables. Après 10 ans, le bilan du plan vert était un échec : inexistence du tissu commercial, lutte contre les maladies non maîtrisés, encadrement technique inexistant, concurrence de la Métropole et du Brésil étaient les principales raisons du bilan catastrophique (Leclerc, 1987).

Il est important de rappeler cet historique car il peut expliquer les difficultés des agriculteurs aujourd'hui, notamment au travers de la fébrilité des banques locales à investir dans ce secteur. Il explique également la diversité des origines et des types d'agricultures en Guyane.

Actuellement, le secteur agricole guyanais est surtout dans une dynamique d'installation de jeunes agriculteurs et d'attribution de terres. La Guyane est le seul département français où la population d'agriculteurs est en croissance (agreste 2000).

## ii. Une faible structuration du secteur et des agriculteurs peu professionnalisés

Malheureusement, ces dernières années n'ont pas vu l'essor de l'agriculture guyanaise se faire malgré un potentiel incontestable. Le paysage institutionnel et d'encadrement technique des agriculteurs est pauvre. Il n'y a plus de R&D orientée sur les problématiques agricoles guyanaises à l'exception de celle du CETIOM (Centre technique des oléagineux). Le CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement) et l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), présents sur le territoire, sont axés sur la forêt. La chambre d'agriculture, tout comme la FREDON (Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles), a des difficultés récurrentes de fonctionnement. Les groupements d'agriculteurs et coopératives (pour la filière végétale) qui ont un fonctionnement effectif bien que difficile sont en nombre très restreints. Ainsi, il sera difficile dans cette étude de se baser sur un historique solide d'études préexistantes sur le flétrissement bactérien.

En un sens, les agriculteurs supportent eux-mêmes le coût des essais et évoluent dans un climat de méfiance où ils ne veulent partager les détails d'itinéraire technique (ITK) mis au point par leurs soins. Ils sont souvent réticents à fournir des données basiques telles que leurs variétés ou les rendements. A cela, il faut ajouter le faible niveau de professionnalisation des agriculteurs : moins de 3% des agriculteurs ont une formation agricole et beaucoup cultivent de manière familiale sans tenir de comptabilité (98% n'en ont pas) (ODEADOM, 2009) (Agreste 2000). Cela a eu un impact certain sur la qualité des données récoltées lors des enquêtes de terrains du stage.

## iii. La filière légumes frais de la Guyane

Dans le secteur de production de légumes frais, on retrouve deux principaux types d'agriculteurs localisés à des endroits distincts de la Guyane.

Les exploitations « traditionnelles » représentent la majorité des exploitations en Guyane (70%, agreste 2000). Elles ont une surface de 2 ha en moyenne en culture extensive. Il s'agit d'exploitants qui fonctionnent sur le mode de l'abattis (agriculture itinérante sur brûlis). L'itinéraire technique employé est déterminé par une faible mécanisation, une faible utilisation d'intrant et le faible niveau de formation agricole de ces exploitants. La main d'œuvre employée est familiale et la production est majoritairement autoconsommée. Les productions végétales sont surtout composées de tubercules et de bananes à cuire. Les



légumes frais sont très peu cultivés. Ces agriculteurs se situent le long des fleuves frontaliers du Maroni et de l'Oyapock et à l'intérieur de la Guyane. (cf. figure 5)

Les exploitations « conventionnelles » se caractérisent par une surface moyenne entre 10 ha et 20 ha. La production y est intensive avec un fort degré d'utilisation d'intrants et une plus grande mécanisation. En moyenne, 80% de leur production est destinée à la vente. En général, les exploitations sont centrées sur le maraîchage et l'arboriculture. On retrouve ces exploitations dans les principaux bassins maraîchers de la Guyane : Cacao, Javouhey Corossony où la population hmong prédomine. La zone de Montsinéry-Tonnégrande, est aussi un pôle maraîcher dans une moins grande importance et cette activité est souvent un complément de l'élevage. (cf. figure 5)

Il est difficile d'évaluer la quantité et les surfaces mises en jeu dans la filière pour chaque type de production. Les chiffres du service de la statistique de la DAAF indiquent des valeurs de production, rendement et surface égales des années 2007 à 2010 ce qui a de faibles chances de refléter la réalité du terrain. Les chiffres indiquent une surface développée de 1225 ha pour les cultures de légumes frais hors banane à cuire en 2007. La surface développée (surface\*nombre de cycles dans l'année) d'aubergines est évaluée à 87 ha, celle de tomates à 126 ha et celle de poivrons et piments à 20 ha.

La production subit une forte saisonnalité qui s'observe directement sur les étals du marché avec une diminution notable de la production de tomate et poivron pendant la grande saison des pluies.

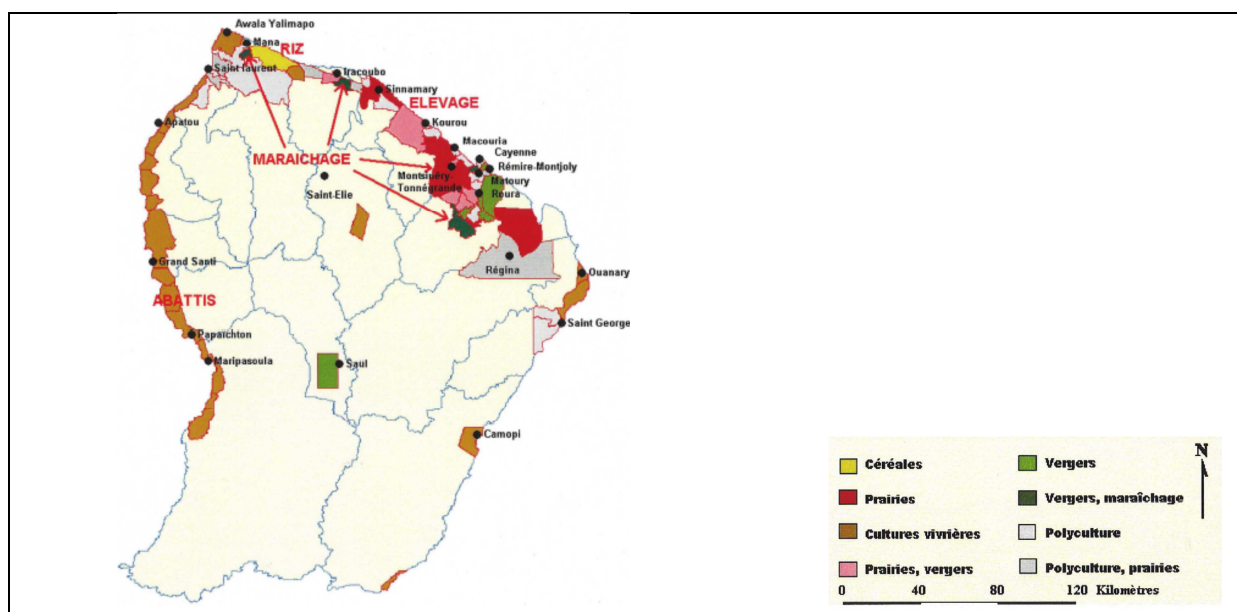


Figure 5 Culture dominante selon la région. Source: DAAF 2000

Les produits sont principalement vendus au marché par les agriculteurs eux-mêmes. Plusieurs types d'acheteurs viennent s'y approvisionner : les particuliers, les petits commerces de proximité et les restaurateurs. La filière courte prédomine donc en Guyane et peu de marchandises sont vendues au travers de coopératives ou de grossistes (moins d'une dizaine fonctionnent effectivement en Guyane pour la filière végétale). Dans une moindre mesure, une partie de la production est vendue aux GMS et à des entreprises de transformation.

La filière pâtit de la qualité et quantité irrégulières des produits, de la non maîtrise des coûts des agriculteurs, des prix de ventes élevés pour certaines productions mais surtout de son manque de structuration.

#### iv. Des défis à relever

Avec un doublement de la population prévue d'ici 2030 (INSEE), le secteur agricole guyanais doit vite augmenter ses capacités de production s'il veut pouvoir répondre à la demande locale. Pour l'heure, l'importation de TAP s'élève à 77 182 kg en 2010 contre une production de 5 367 500 kg de TAP en 2010 (sources : douanes & agreste2010)

La récente ouverture du pont de l'Oyapock reliant le Brésil et la Guyane est un événement présent à l'esprit des agriculteurs qui se demandent si cela va exacerber la concurrence et nuire au développement des filières locales.

Enfin, l'implantation récente mais fulgurante des GMS en Guyane ajoute un maillon à la filière qui oblige à une structuration en amont des agriculteurs pour que cela leur soit bénéfique et éviter de perdre ce marché porteur mais risqué au profit d'importations étrangères.

Une meilleure qualité et une quantité régulière sinon prévisible de la production sont nécessaires pour que tous ces défis soient relevés. Cela passe en parti par la connaissance des principaux obstacles à la production. Le flétrissement bactérien en est un pour les agriculteurs maraîchers et mérite d'être étudié.

### c. Historique du flétrissement bactérien en Guyane

Bien que l'existence du flétrissement bactérien doive être antérieure, les premières identifications de *R. solanacearum* datent de la fin des années 1960. En 1966, Bernard Digat isole 4 souches de bactérie de plants de tomate, de poivron et d'aubergine qu'il identifie formellement comme étant l'agent *R. solanacearum* (à l'époque appelée *Pseudomonas solanacearum*) (Digat, 1967).

En 1978, une autre souche de l'agent *R. solanacearum* isolée en Guyane par Digat devient l'organisme modèle d'étude de l'équipe du chercheur C. Boucher de l'INRA de Toulouse. Le génome de la souche, appelée GMI1000, sera le premier à être séquencé entièrement. (Wicker, conversation personnelle).

Dans les années 1980, la greffe de solanacées sur aubergines sauvages était déjà pratiquée comme le mentionne un mémoire de thèse de cette époque (Gely, 1983). Bien que le flétrissement bactérien soit un problème de taille en Guyane, il n'a pas été trouvé de rapport décrivant l'impact économique et surtout agricole de la maladie dans les archives consultées.

Des prélèvements faits (tableau 2) par le SPV (service de la protection des végétaux de la DAAF) et la FREDON des années 1980 à nos jours, attestent de la présence du flétrissement bactérien. Cependant, les souches sont rarement phylotypées. Il faut noter la présence des souches moko, prélevées dans plusieurs exploitations. C'est en décembre 2010 que l'existence du phylotypeII/séquovar4NPB a été mise en évidence en Guyane.

date de prélèvement	Lieu	plante hôte	phylotype/obs	déterminé par
1983	ND	Aubergine	ND	GRISP Antilles-Guyane
1990	ND	Poivron	ND	GRISP Antilles-Guyane
1994	ND	Anthurium	ND	GRISP Antilles-Guyane
2006	Montsinéry	Bananier	IIB/4	GRISP Antilles-Guyane
2007	Cacao	Bananier	IIB/4	LNPV Angers
2007	Montsynéry	Bananier	IIB/4	LNPV Angers
2010	Matiti, Javouhey	aubergine, tomate, pourpier	I, IIB/4NPB, II	PRAM-CIRAD Martinique
2009-2011	prélèvements de routine de la FREDON	Solanacées	ND	FREDON, analyse par flash kit

**Tableau 2 Historique des prélèvements de l'agent *R. solanacearum* effectués en Guyane. ND : non déterminé. IIB/4 : Phylotype II clade B séquévar 4, IIB/4NPB : Phylotype II clade B séquévar 4NPB. Source: DAAF SPV**

## 4. Les objectifs de l'étude

Plusieurs partenaires participent au stage: le service de l'alimentation (SALIM) de la DAAF ainsi que la FREDON (fédération régional de défense contre les organismes nuisibles) pour la partie expertise terrain et isolement des souches de l'agent *R. solanacearum*. L'exploitation du lycée de Matiti et l'agrocampus (CIRAD-INRA) pour les expérimentations qui se dérouleront lors du stage. Enfin, le PRAM-CIRAD de Martinique contribue également par le phylotypage des souches de l'agent *R. solanacearum* isolées. A la suite des premières réunions avec les partenaires du stage, il a été décidé de traiter les objectifs suivants.

### a. Approfondir les connaissances génétiques sur la population de l'agent *R. solanacearum* de Guyane

La campagne de prélèvements de souches de l'agent *R. solanacearum* en décembre 2010 a révélé la présence du phylotypeII/séquévar4NPB en Guyane dans la zone de Matiti. Dans le cadre du stage, on cherchera à collecter une plus grande quantité de souches de l'agent *R. solanacearum* sur cultures de solanacées à enjeux économiques majeurs, la tomate, l'aubergine et le poivron, dans le but de qualifier l'étendue de la distribution du phylotype émergent en Guyane.

Plus globalement, on cherchera à avoir une image de la diversité génétique des souches de l'agent *R. solanacearum* intraparcellaire et présentes sur le littoral guyanais. On se demandera si des facteurs choisis de manière pertinente peuvent expliquer la variabilité génétique observée.

Pour des raisons pratiques, l'objectif du nombre de souches à analyser est limité à une centaine.

## b. Diagnostiquer le danger inhérent aux pratiques

Un des autres objectifs principaux des partenaires du stage est d'améliorer la connaissance sur les systèmes d'exploitation maraîchers guyanais. Dans le cadre de l'étude, l'aspect des pratiques culturales sur TAP sera essentiellement traité. Les aspects socio-économiques seront peu abordés.

Les données seront collectées au moyen d'enquêtes de terrain de préférence chez les agriculteurs où l'échantillonnage de souches de l'agent *R. solanacearum* se fera. Il sera important de qualifier la place qu'occupe la culture des TAP dans les exploitations afin de relativiser les conclusions tirées des enquêtes. L'analyse de l'itinéraire technique (ITK) des agriculteurs permettra de rendre compte d'une typologie d'ITK plus ou moins risqués face au développement du flétrissement bactérien.

Cependant, un lien direct entre pratiques culturales et importance de la maladie ne doit être fait en aucun cas. En effet, les conditions environnementales locales ont une importance capitale dans l'expression de la maladie.

## c. Proposer des solutions

Ce volet du stage se place dans la continuité du travail d'expérimentations déjà mené par la FREDON et le SALIM. Il s'agit de mettre au point, dans le contexte guyanais une méthode d'assainissement du sol par solarisation qui permettrait de lutter contre le flétrissement bactérien. Une première expérience a été faite à Javouhey, une deuxième sera menée sur l'exploitation du lycée de Matiti dans le cadre du stage.

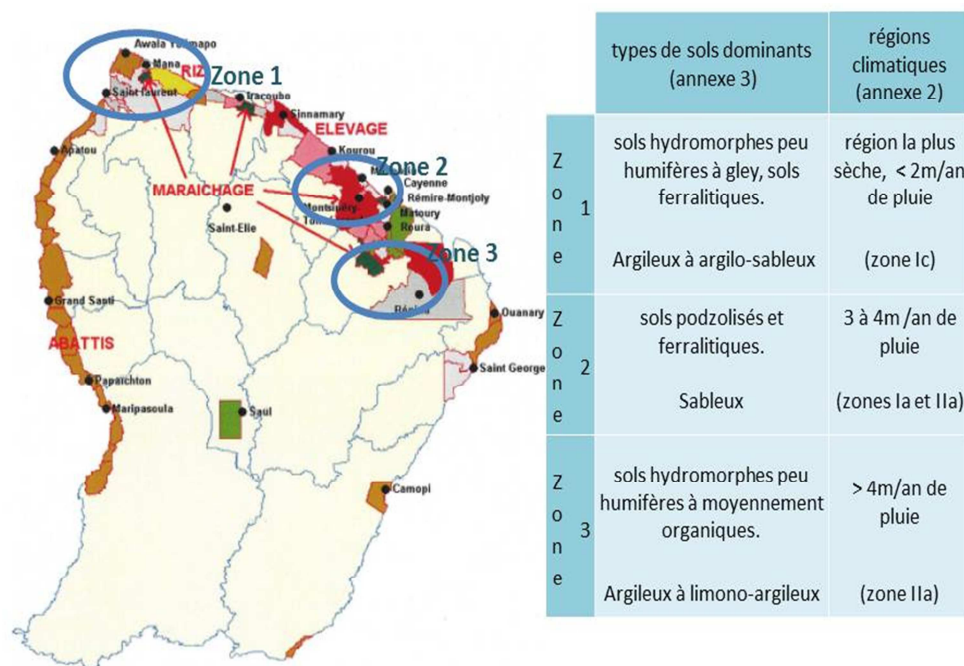
Enfin, un test d'inoculation artificielle de l'agent *R. solanacearum* sur différentes variétés de TAP sera effectué dans le but d'un criblage en vue d'un essai de plein champ.

# 5. Matériels et méthodes

## a. Délimitation de la population d'agriculteurs à enquêter

Les agriculteurs choisis pour participer à l'étude cultivent au moins l'une des productions de TAP. La culture doit être en place pour pouvoir observer la présence ou l'absence de symptômes de flétrissement bactérien et prélever des échantillons le cas échéant.

Comme dit précédemment (partie 4) l'étude se focalisera dans les bassins maraîchers du littoral. Ainsi trois zones distinctes ont été délimitées. Elles ont des caractéristiques pédoclimatiques particulières décrites dans la figure n°6 (voir aussi annexes 2 et 3). Par ordre d'importance en termes de surfaces de productions de légumes frais vient la zone 1 qui comporte les villes de Saint-Laurent Javouhey et Mana. La zone 3 (Cacao à Corossony) vient ensuite suivie par la zone 2 regroupant plusieurs petites zones de production de la commune de Kourou à celle de Matoury.



**Figure 6 Caractéristiques des zones agroclimatiques**

Le point de départ a été de centraliser une liste de contacts viables d'agriculteurs maraîchers. La principale source de contacts d'agriculteurs a été les experts de terrain bien au courant des productions des agriculteurs. Ainsi, une trentaine de contacts d'agriculteurs maraîchers a été rassemblés grâce à différents organismes agricoles.

Un listing d'agriculteurs toutes productions confondues a été fourni par la FREDON et par la DAAF. Les agriculteurs des zones étudiées sont d'abord contactés par téléphone pour savoir s'ils produisent des TAP et un rendez-vous est pris le cas échéant.

Le nombre d'agriculteurs enquêté a été limité par la disponibilité de contacts viables, la disponibilité des agriculteurs contactés, leur volonté à participer ou non mais aussi par la période de l'étude. En effet, les enquêtes se sont déroulées d'avril à juin, mois de la saison des pluies durant laquelle beaucoup moins d'agriculteurs cultivent des TAP.

## b. Enquête approfondie sur les pratiques des agriculteurs

Deux logiques s'additionnent dans l'élaboration du questionnaire. Premièrement il s'agit de comprendre aussi globalement que possible le contexte dans lequel évolue la production de TAP chez chaque agriculteur afin de comprendre sa logique de fonctionnement. Les différentes rubriques abordées par l'enquête semi-directive sont donc les suivantes :

- Identification géographique de l'exploitation
- L'historique de l'exploitation
- L'historique de culture des TAP et de la maladie du flétrissement bactérien
- Le contexte agro-environnementale : caractérisation du parcellaire, des sols et de la localisation des parcelles de TAP



-L'itinéraire technique le plus précis possible pour les cultures de TAP en place. Si l'agriculteur a l'habitude de faire une autre production de TAP qui n'est pas en place au moment de l'enquête l'ITK est aussi demandé.

-Le contexte socio-économique : équipement, main d'œuvre, circuit de vente ...

Chaque rubrique est détaillée dans le questionnaire complet présenté en annexe 4. Les éléments de réponses permettront de tirer des conclusions quant aux principaux problèmes rencontrés par l'agriculteur, d'expliquer ses choix de spéculations, d'organisation du calendrier des cultures et de stratégie de lutte parasitaire.

En deuxième lieu, il s'agit d'identifier les points chauds des ITK ou des conditions environnementales qui pourraient favoriser le flétrissement bactérien. Le focus sur ces points est réalisé a priori sur la base des connaissances décrites dans la partie 2. Il s'agit notamment des connaissances épidémiologiques de l'agent *R. solanacearum*, des interactions potentielles entre autres plantes hôtes de l'agent *R. solanacearum*, des interactions avec d'autres pathogènes et avec les conditions environnementales notamment au niveau du sol et de l'eau.

Ainsi tout au long du questionnaire sur l'ITK l'accent sera mis sur la qualité phytosanitaire de production des plants, le travail du sol avant implantation et pendant la culture, la stratégie de lutte parasitaire, la stratégie de rotation, les pratiques d'amendement (chaulage et fumures) et de fertilisation et la gestion de l'eau. (Voir questionnaire en annexe n°4)

### c. Typologie des ITK

Les informations récoltées seront synthétisées selon une **grille de lecture commune** à toutes les exploitations afin de faciliter leur interprétation. Une fiche de synthèse récapitulant le mode de fonctionnement globale de chaque exploitation sera utilisée à cette fin et permettra la présentation des principales caractéristiques de l'échantillon enquêté.

En vue de la typologie, toutes les variables qualitatives et quantitatives potentiellement discriminantes de l'ITK sont **répertoriées** selon des thématiques communes et **uniformisées**. Ce dernier travail a été important et tenait parfois de la reconstitution car les agriculteurs parlent souvent en terme de poignées d'engrais par plant ou encore de nombre de paniers récoltés pour telle culture pour les rendements.

Le **choix des critères** pour la typologie se fait en fonction de la connaissance du terrain développée pendant la période d'enquête, des variables disponibles pouvant les étayer et sur l'avis de différents experts consultés (notamment technicien FREDON, chef de culture de l'exploitation du lycée de Matiti). Ils constituent la clé de détermination de la typologie. Les critères prennent des valeurs distribués entre deux extremums d'un axe de référence où s'échelonne la diversité des modalités de pratiques observées au travers des variables répertoriées.

Enfin, le **traitement statistique** par la méthode de classification ascendante hiérarchique (CAH) (package fpc de R) des critères permettra d'établir les degrés de ressemblance entre les ITK et d'extraire des groupes différenciés formant la typologie. Ce type d'analyse permet de répartir les individus d'une population (ici les itinéraires techniques de l'échantillon enquêté) dans des groupes homogènes ayant les mêmes caractéristiques. Le principe est de calculer une matrice des distances entre les individus en fonction de variables

choisies puis de regrouper les individus les moins distants. Les liens entre individus des groupes sont ensuite représentés selon un dendrogramme. Une analyse des correspondances multiples (ACM) permettra de corroborer la classification obtenue grâce à la CAH.

## d. Phylotypage des souches de l'agent *R. solanacearum*

### i. Echantillonnage et isolement des souches de l'agent *R. solanacearum*

Les échantillons sont collectés de préférence dans les exploitations enquêtées. On cherche à représenter les 3 espèces hôtes (tomate, aubergine et poivron) dans chacune des zones délimitées. Les exploitations où la culture de solanacées présente des foyers de flétrissement importants sont échantillonnées. Le prélèvement se fait de manière aléatoire dans toute la parcelle pour une collecte de 10 à 15 plantes infectées. Même lorsque les objectifs de prélèvements sont atteints (3 espèces/zone) des prélèvements moins importants sont réalisés dans le souci de constituer une collection de souches pour la DAAF. Ainsi la logique de prélèvements et d'analyse PCR suit la logique du schéma suivant.

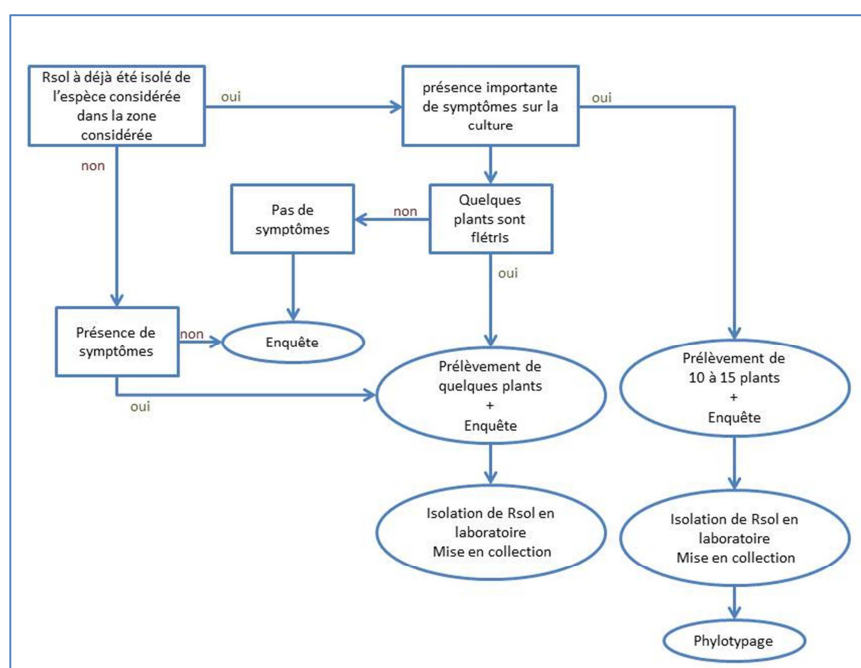


Figure 7 Démarches suivies pour les enquêtes et échantillonnages. Rsol : *R. solanacearum*

Chaque plant infecté est prélevé entièrement avec ses racines sur le terrain. On vérifie la présence de galles qui signaleraient une co-infection par des nématodes à galles. La variété et le précédent cultural sont renseignés par l'agriculteur.

Les échantillons sont traités le jour même ou sont placés au réfrigérateur et traités le lendemain lorsque les contraintes de déplacement rendent le traitement immédiat impossible. A l'aide d'outils stériles, un morceau d'environ 3-5cm du collet des plantes est prélevé. Sous hotte à flux laminaire, chaque fragment est trempé dans de l'alcool à 95° puis flambé pour stériliser sa surface. L'extraction des bactéries se fait par dilacération des tissus après

incubation dans une solution tampon pendant 15 à 20 minutes. Une anse de la solution bactérienne (10 µl) est ensuite prélevée et étalée en trois secteurs sur milieu semi-sélectif, SMSA. Chaque boîte de pétri est identifiée par l'exploitation d'origine et le numéro du plant. 48h après incubation à 28°C, on prélève une colonie typique de *R. solanacearum* sur le milieu SMSA que l'on repique sur un milieu de culture non sélectif, le milieu CPG. 24h après incubation à 28°C, on prélève à l'aide d'une anse de 1µl, 1 à 2 colonies purifiées qui seront conservées à température ambiante, dans un tube eppendorf rempli d'eau distillée stérile. Le détail des différents protocoles est expliqué en annexes 7 à 9.

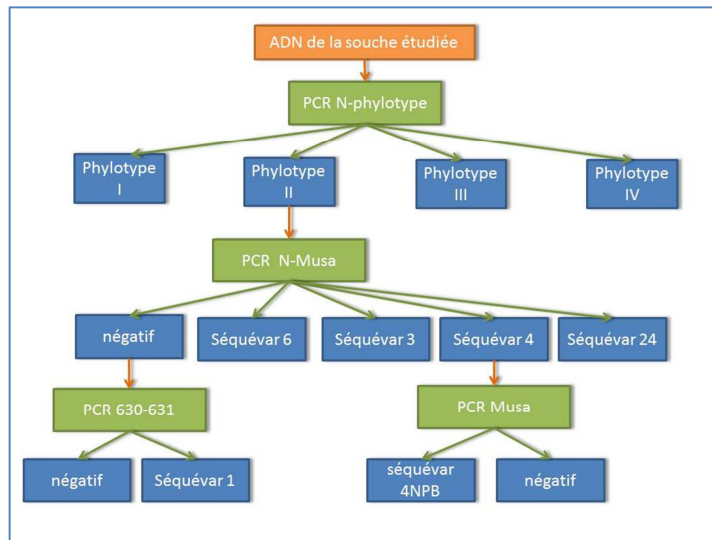
## ii. Phylotypage des souches de l'agent *R. solanacearum*

Le phylotypage permet de caractériser la diversité génétique des souches selon le schéma de classification détaillé en partie 2.2. Cette partie du stage s'est déroulée pendant une semaine au PRAM-CIRAD de la Martinique dans l'équipe de Régine Coranson-Beaudu et Péninna Deberdt.

Les 9 sets de 10 à 15 isolats prélevés sur les 3 espèces dans chacune des zones sont phylotypés. En plus de celle-ci, on choisit de caractériser des cas de figure originaux ou propices à la détection de la souche de phylotypeII/séquévar4NPB. Il s'agit d'un set d'échantillons prélevés sur tomates greffées sur *solanum torvum* présentant des symptômes du flétrissement bactérien, mais aussi sur courgettes flétries et sur poivrons flétris en précédent melon.

Les méthodes moléculaires employées sont celle de la multiplex-PCR suivie d'une migration sur gel d'électrophorèse et d'une révélation. La phylotype-multiplex-PCR (Pmx-PCR) amplifie de manière spécifique des fragments d'ADN situés sur la région ITS 16S-23S (voir partie 2.a.iii). Le produit de l'amplification donne des amplifiats de tailles spécifiques à chaque phylotype. Après PCR, les amplifiats sont déposés sur un gel à électrophorèse où ils migrent en fonction de leur taille. En comparant la position des amplifiats sur le gel avec un étalon (ou à la position d'amplifiats dont le phylotype est connu) on peut déduire le phylotype des souches étudiées.

Sur le même principe, des PCR spécifiques permettent de détecter les séquévars 3, 4, 6 ou 24 (groupe moko), le séquévar 1 et enfin le séquévar 4NPB. Le schéma ci-dessous rend compte des différentes PCR utilisées pour la caractérisation des séquévars et phylotypes. En annexe n°11 sont décrits en détail le jeu d'amorces, les caractéristiques des amplifiats et de manière générale le protocole pour chaque PCR et migration sur gel effectués.



**Figure 8 Démarche d'utilisation des PCR**

### iii. Analyse statistique des résultats du phylotypage

On utilisera le logiciel R pour traiter les données. Plusieurs variables qualitatives explicatives sont prises en compte pour comparer les différences de distributions des phylotypes. Elles sont présentées dans le tableau ci-dessous.

La fréquence de distribution des différents phylotypes et séquévar sera analysée par un test de Fisher. Une analyse des correspondances multiples (ACM) permettra de représenter graphiquement les données pour mieux les interpréter. (package ade4)

variables	explications	modalités	variables	explications	modalités
zone_expl	zone de prélèvement	1, 2, 3	cat_pH	catégorie de pH du sol	Inférieur à 5,5 (inf_55), sup_55 : supérieur à 5,5 (sup_55)
famille_precedent	famille du précédent cultural	jachère (jachere), plusieurs espèces maraichères (pls_espece), cucurbitacées (cucurbit), malvacées (malvac), brassicacées (brastica), solanacées (solana)	espece_hot_e	espèce hôte sur laquelle a été prélevé la souche	tomate, poivron, aubergine, tomate greffée sur solanum torvum (tomate_g)
risque	précédent cultural hôte ou non de Rsol	précédent hôte (a_risque), précédent non hôte (sans_risque)	sequevar	séquévar (ou phylotype seulement)	phylotype (I, II), séquévars (II/4NPB, II/1)
sol	texture du sol	argileux (a), argilo-limoneux (la), sablo-argileux (sa)	musa	présence de bananiers dans l'exploitation	oui, non

**Tableau 3 Listes des variables et de leurs modalités. Rsol : *R. solanacearum***

## e. Criblage variétal

L'objectif est de qualifier la relative résistance de plusieurs variétés de TAP face à un échantillon de souches de l'agent *R. solanacearum* de Guyane. Le principe est d'inoculer artificiellement la bactérie à différentes variétés et de constater l'apparition plus ou moins rapide des symptômes de flétrissement bactérien.

### i. Choix des variétés

On choisit les variétés connues pour leurs propriétés résistantes au flétrissement comme Caraibo, HeatMaster, Kalenda ou Narval. D'autres variétés sont choisies car utilisées par les agriculteurs guyanais et plus ou moins résistantes au champ selon leurs dires. Certaines

variétés sont choisies pour leur origine géographique : Samrudhi, Fond may, Orma, Blue star et Ganga proviennent de semenciers asiatiques (Knownyou seed et Eastwest seed). En effet, lors de tests de pathogénicité antérieurs il a été montré que le germplasm asiatique pouvait être source de meilleure résistance (Wicker *et al.*, 2009). En tout, 13 variétés de tomates, 9 d'aubergines (dont un porte-greffe), 10 de poivrons sont testées. Les variétés sont nommées dans le tableau ci-dessous. Pour chaque espèce, les variétés caractérisées comme résistantes par l'obteneur sont identifiées.

Tomates	Aubergines	Poivrons
calinago <sup>b</sup>	african beauty	blue star <sup>b</sup>
calypso	Baluroi	california wonder
caracoli <sup>b</sup>	black beauty	ganga
caraibe improved <sup>b</sup>	commodore <sup>b</sup>	golden prince
carioca <sup>b</sup>	fond may	narval f1 <sup>b</sup>
heat master <sup>b</sup>	kalenda <sup>b</sup>	stella f1
marmande	midnight <sup>b</sup>	thetys
mongal <sup>b</sup>	orma	tibesti <sup>b</sup>
pratico <sup>b</sup>	solanum torvum <sup>b</sup>	titan <sup>b</sup>
roma vf		yolo wonder
samrudhi		
sumo <sup>b</sup>		
TW6 <sup>b</sup>		

**Tableau 4 Liste des variétés testées.** b : variétés dites résistantes

Trois souches de *R. solanacearum* de phylotypes différents sont sélectionnées parmi la collection de souches phylotypées du laboratoire de la DAAF. Une souche de phylotype I isolée sur aubergine, une souche de phylotype II (différent du séquévar 4NPB) isolée sur tomate et la dernière de phylotypeII/séquévar4NPB.

## ii. Dispositif expérimental

Un traitement correspond à la combinaison d'une variété inoculée par un type de souche ou d'une variété « inoculée » avec de l'eau stérile servant de témoin. Chaque traitement est répété dix fois. Les plants sont disposés dans des godets individuels et répartis sur 4 tables selon un dispositif à randomisation totale. L'expérience se déroule dans une serre à température (entre 25 et 30°C) et humidité relative (entre 80 et 90) ambiantes.

Les semences sont mises à germées pendant 3 semaines dans du terreau sain afin que tous les plants aient un stade de développement minimal satisfaisant (2 à 3 feuilles pour aubergine et poivron, 3 à 4 feuilles pour la tomate). A ce stade, les plantes sont repotées dans du terreau sain dans des godets de 0.6 L puis placées dans la serre pour acclimatation. Deux jours plus tard se fait l'inoculation des souches de l'agent *R. solanacearum*.

### iii. Inoculation

La préparation de l'inoculum débute une semaine avant l'inoculation artificielle. Les bactéries, stockées dans de l'eau distillée, sont prélevées souche par souche et mise à germer sur milieu semi-sélectif SMSA. Au bout de 2 jours, les colonies uniques présentant les caractéristiques de colonies virulentes sont repérées. Il s'agit de colonies à centre rosé de forme ovoïde mais surtout à aspect visqueux (dû à la sécrétion d'exopolysaccharides). Pour chaque phylotype une colonie virulente unique est repiquée sur milieu CPG. Le lendemain, chaque boîte de pétri CPG est repiquée 5 fois afin d'avoir assez de bactéries pour préparer l'inoculum à la concentration souhaitée. Les boîtes de pétri sont ensuite mises à incuber.

Le jour même de l'inoculation, la solution d'inoculum titrée est préparée. Une solution mère est préparée par dilution dans de l'eau distillée stérile des bactéries. La densité optique (DO) de la solution est ensuite mesurée. En sachant qu'une DO de 0.1 correspond à une concentration de  $10^9$  CFU/mL, on prépare une solution d'inoculum titrée à  $10^7$  CFU/mL par dilution de la solution mère. (Voir annexe 10)

10 mL de solution sont inoculés en versant la solution à la surface du terreau à l'aide d'une seringue stérile en fonction du traitement correspondant. Les plantes témoins reçoivent 10mL d'eau distillée. Avant l'inoculation, on aura pris soin de ne pas arroser les plantes.

Les plants sont arrosés à la bouteille individuellement tous les 2 jours au début puis tous les jours. Une coupelle est placée en dessous de chaque godet afin d'éviter les risques de contamination dus au ruissellement de l'eau entre les godets. On veille à ce que les plantes soient bien espacées afin d'éviter les contaminations par contact.

### iv. Suivi de l'expérimentation

Tous les 2 à 3 jours, un relevé des plants flétris est effectué pendant 31 jours. Cela permettra de calculer le taux de flétrissement et également l'AUDPC (Area Under Disease Curve Progression) propre à chaque traitement selon la formule suivante :

$$\sum_{i=1}^n \frac{(x_i + x_{i-1}) * (t_i - t_{i-1})}{2}$$

Dans laquelle  $x_i$  est le nombre de plants atteints de flétrissement bactérien au temps  $t_i$  (idem pour  $x_{i-1}$  au temps  $t_{i-1}$ ) et «  $t_i - t_{i-1}$  » le temps écoulé entre les deux relevés de symptômes. Ceci, pour les  $n$  relevés effectués pendant l'expérience.

On cherche à vérifier si les symptômes observés sont bien causés par la bactérie. Ainsi des fragments du collet des plantes symptomatiques (25% des plantes prélevées) sont sectionnés et subissent les étapes du protocole de l'annexe n°7 pour confirmer ou non la présence de l'agent *R. solanacearum* dans leurs tissus.

A la fin de l'expérience, on vérifie l'absence ou la présence de l'agent *R. solanacearum* dans les tissus des plantes asymptomatiques. En effet, *R. solanacearum* peut être présente dans la plante sans causer de réaction de pathogénicité (infection latente). On calcule ainsi l'indice de colonisation selon la formule suivante (Prior, 1996) :  $Nwp * Rwp + (Ns * Rs)$  où  $Nwp$  est le pourcentage de plantes flétries,  $Rwp$  le pourcentage de plantes flétries colonisées,  $Ns$  le pourcentage de plantes asymptomatiques et  $Rs$  le pourcentage de plantes asymptomatiques colonisées par l'agent *R. solanacearum*.



## v. Traitement statistique des données

Plusieurs modèles seront évalués. Les variables AUDPC, taux de flétrissement et le nombre de plantes flétries donnent toutes les trois une information sur l'incidence de la maladie. On cherchera à les expliquer selon une analyse de la covariance (ancova) du modèle linéaire généralisé et par une analyse de régression logistique à loi binomiale. Lorsque les conditions d'homoscédasticité et de répartition aléatoire des résidus ne sont pas vérifiées, la variable à expliquer est transformée en prenant sa racine carrée ou l'arc sinus de sa racine carrée (transformation de Bliss). Enfin, les valeurs d'AIC (Critère d'Information d'Akaike) sont calculées pour les modèles et celui dont l'AIC est le plus faible est retenu. On détermine alors quelles variables ont un effet significatif sur la variable à expliquer.

Dans un second temps on cherchera à catégoriser les variétés en fonction des valeurs des taux de colonisation et de taux de flétrissement. A cette fin, la méthode de segmentation non hiérarchique floue (fonction fanny et package cluster de R) permettra de partitionner les variables selon le nombre souhaité de catégories. Afin de déterminer la partition optimale, une autre fonction de R (cluster.stat) comparera deux à deux les différentes partitions établies avec la fonction fanny et permettra de choisir le nombre adéquat de groupes à garder (Lebeau *et al.*, 2011).

## f. Essai de solarisation

Dans le but de mettre au point une méthode d'assainissement du sol une expérimentation de solarisation a été menée. Au vu de la durée de l'expérience, les premiers résultats sont attendus pour la fin du stage et ne pourront faire l'objet d'un traitement statistique dans ce rapport.

L'essai se base sur les résultats d'une première expérience du même type à Javouhey mené par la FRFEDON et le SALIM. Cette expérience a prouvé l'effet assainissant de la solarisation vis-à-vis de l'agent *R. solanacearum*. On cherche à confirmer ces résultats sur un type de sol différent. En effet, le sol de Javouhey est argilo-sableux (très argileux) tandis que celui de Matiti (où se déroule la deuxième expérience) est sableux. La présence de *R. solanacearum* sur cette parcelle a été observée lors de cultures de solanacées précédemment décimées par le flétrissement bactérien. De plus des prélèvements de l'agent *R. solanacearum* ont été effectués dans l'exploitation sur aubergines et tomates. Ils ont révélé la présence du séquévar émergent, du phylotype I et II dans l'exploitation.

## i. Choix des modalités

Le dispositif est élaboré afin de tester plusieurs hypothèses. On cherche à savoir si la solarisation a vraiment un effet assainissant par rapport à un sol non traité.

On cherche à savoir si l'utilisation d'une bâche de solarisation traitée anti-UV représente un avantage significatif par rapport à une bâche de serre classique. Ce questionnement reflète les attentes des agriculteurs qui souhaitent mettre en œuvre un moyen de traitement abordable au niveau du coût.

Enfin, il a été prouvé dans la littérature consultée (cf. partie 2.) que l'ajout de fumier ou de compost peut multiplier l'effet assainissant de la solarisation. L'une des hypothèses

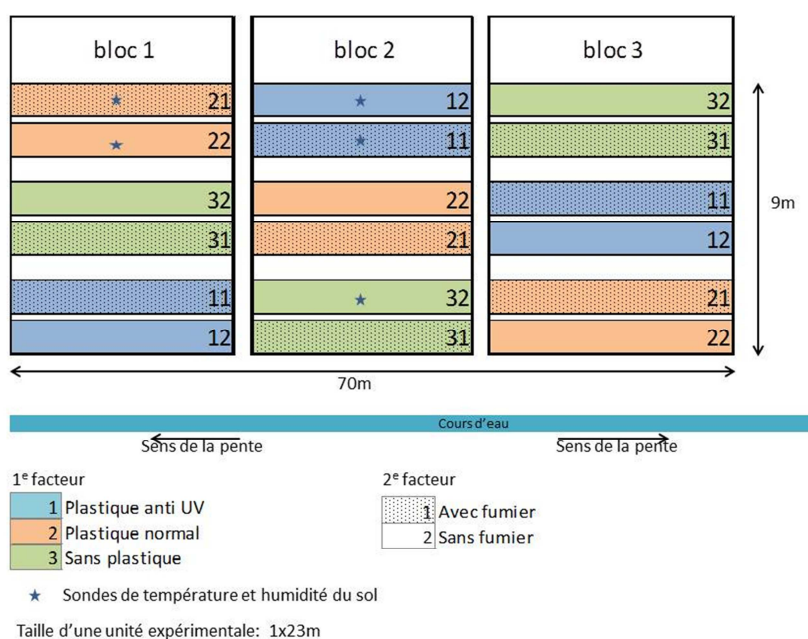
explicatives évoquées est que la présence de bactéries du fumier facilite l'augmentation de la température grâce aux réactions de fermentation. Ce facteur sera donc testé également.

Ainsi le dispositif comportera 2 facteurs à tester. Le type de plastique avec 3 modalités : plastique traité anti-UV, plastique banal, sans plastique. L'apport de fumure avec deux modalités ; avec et sans fumure.

Enfin, l'espèce aubergine variété Kalenda est choisie comme bioindicateur de la réussite du traitement. La tomate plus sensible aurait pu être choisie mais occasionnait trop de contraintes au niveau de l'ITK.

## ii. Dispositif expérimental

La largeur de la bâche de solarisation, la taille de la parcelle expérimentale sont des contraintes qu'il a fallu prendre en compte pour établir le dispositif expérimental. Les 6 traitements résultants de la combinaison des modalités seront donc distribués selon un dispositif en split-plot détaillé dans le schéma suivant. Chaque traitement est répété trois fois (voir figure 9).



**Figure 9 Dispositif de l'expérience de solarisation**

## iii. Données enregistrées

La température et l'humidité du sol sont enregistrées à 5 cm et 30 cm de profondeur (profondeur moyenne estimée d'exploration des racines) dans les traitements indiqués sur le schéma. On enregistre également des données météorologiques dont la température ambiante et le rayonnement global.

Le taux de flétrissement bactérien (nombre de plants atteints/nombre total de plants) est calculé en relevant une fois par semaine le nombre de plants présentant des symptômes pour chaque unité expérimentale. Lors des récoltes futures le rendement sera également relevé.

#### iv. Traitement statistique

Les séries de températures relevées dans les différents traitements seront comparées. L'AUDPC (Area Under Disease Curve Progression) sera calculée et moyennée sur les 3 répétitions pour chaque traitement.

Afin de déterminer si chacun des facteurs a une influence ou non sur l'incidence de la maladie, on effectuera un test ANOVA.

## 6. Résultats et discussion

### a. Typologie des pratiques agricoles maraichères

#### i. Le choix des variables discriminantes

Le but de l'analyse est de discriminer les différents itinéraires techniques rencontrés pendant la phase d'enquête par rapport aux dangers qu'ils peuvent comporter quant à la l'augmentation de l'inoculum et du flétrissement bactérien dans l'exploitation.

Après une synthèse des itinéraires techniques (annexe 5 et 6), les variables pour la classification sont choisies. On s'attache à sélectionner les variables pour lesquelles il existe des informations dans toutes les exploitations. En outre, chaque variable doit posséder des modalités qualitativement bien différentes de manières à rendre pertinente la classification. Douze variables sont ainsi retenues et sont construites comme expliquées dans la partie méthodologie, entre deux extremums de la pratique la moins risquée (codée 1) à celle considérée comme la plus risquée. Les modalités prises par les variables sont récapitulées en annexe 12. Quelques modalités des variables sont présentées ci-dessous ainsi que la justification de leur choix:

#### LE MODE DE CULTURE DES SOLANACEES

Le degré d'artificialisation de l'environnement est un facteur influençant énormément sur la pression parasitaire dont celle du flétrissement bactérien. La **culture sous abris** (2) protège des intempéries climatiques qui fragilisent la plante par rapport à une culture de **plein champ** (3). La culture **hors sol sous abris** (1) s'affranchit totalement de la source d'inoculum la plus importante (le sol) grâce à l'utilisation d'un substrat synthétique ou stérilisé.

#### LE MODE D'IRRIGATION

L'irrigation par **aspersion** (3) est favorable à la dissémination du pathogène par splashing ou par ruissellement sur des organes exsudant la bactérie. A l'inverse le **goutte à goutte** (1) en limite l'importance. Parfois **aucun** réseau d'irrigation (2) n'est présent, cela correspond toujours à des cas de cultures de plein champ en saison des pluies.

#### L'ASSAINISSEMENT DU SUBSTRAT

Il est évident que **l'assainissement du sol de plein champ** (2) ou l'utilisation de **substrats artificiels sains** (1), comme la fibre de coco réduit et annule dans le second cas les sources d'inoculum importantes se trouvant habituellement dans les substrats des plantes comme c'est le cas dans des sols de **plein champ non assainis** (3)

## L'ORIGINE DES SEMENCES

Même si l'hypothèse fait débat, la transmission du flétrissement bactérien par des semences issues de plantes contaminées pourrait se réaliser. Les agriculteurs ont parfois la pratiques de **multiplier eux-mêmes leurs semences** (2), favorisant ainsi la présence éventuelle de bactéries sur les semences et la perte des résistances génétiques du matériel végétal d'origine.

## LA PREPARATION DES PLANTULES

Plus le contact avec la terre contaminée est retardé et plus la plante a le temps de gagner en vigueur et de développer un système racinaire sain. Les **semis à même le sol en vrac** (3) ont souvent pour conséquences une contamination précoce des plants (si l'inoculum est présent dans le sol). Ils occasionnent des dégâts importants sur les racines lors de l'arrachage pour repiquage qui multiplient les portes d'entrée des bactéries.

## LES PRATIQUES DE STERILISATION

Toutes les pratiques visant à **stériliser** les outils de travaux (1), les abris, etc. permettent la réduction de l'inoculum et évite les contaminations par contact et par l'action de l'homme.

## LA GESTION DES PLANTS FLETRIS

Lorsqu'un plant est flétri, il exsude des bactéries par ses racines (voir partie 2.b). Dans un souci de prophylaxie il est donc préférable **d'arracher tous plants flétris** après les premiers symptômes (1). De même, l'arrachage et exportation de la culture contaminée en fin de cycle permet de limiter la persistance des bactéries dans les résidus de culture dans le sol.

## L'ENTRETIEN DU PEUPLEMENT VEGETAL

La taille des plants dans le but d'en **réduire l'appareil végétatif** (1), limite la pression en ravageur (par exemple moins d'aleurode) et rend les traitements phytosanitaires plus efficaces. Cela limite la fatigue du plant. De plus, un **tuteurage ou palissage** évite aux organes de trainer à même le sol et d'être contaminés par simple contact avec la terre.

## LA PRESENCE D'EAU STAGNANTE

La présence **de zones inondées ou de zones du sol très humides** (2) pendant tout ou partie de la culture favorise la multiplication, la persistance et la transmission de la bactérie.

## LES ROTATIONS

Comme il a été montré dans l'étude génétique d'isolats de *R. solanacearum* (partie 6.b), le précédent cultural a une importance significative sur le type de souche qui contamine la culture de solanacées. Ainsi, **l'inexistence** de rotation ou les rotations incluant des **bananiers** ou même la **co-culture de bananiers** et de solanacées (4) sont les plus à même de favoriser la présence de souches émergentes très agressives sur de nombreux cultivars.

## LA PRESENCE D'ESPECES A RISQUES SUR L'EXPLOITATION

Dans le même sens, la présence d'espèces hôtes aux abords de la parcelle cultivée ou plus globalement dans l'ensemble de l'exploitation sont des puits non négligeables d'inoculum. Si l'exploitation possède une forte **proportion de cucurbitacées, solanacées et**

**bananiers** par rapport à la surface totale de ses productions maraichères alors cette pratiques est considérée comme très risquée (3).

## LA GESTION PHYTOSANITAIRE DE LA CULTURE

Enfin, **l'utilisation efficace** des pesticides permet de limiter la pression parasitaire sur la culture en insectes, champignons et mauvaises herbes (1). Dans certains cas **aucun usage** des produits phytosanitaires n'est fait malgré une pression parasitaire existante (3).

### ii. L'établissement statistique de la typologie

Le script 'R' et les des données ayant servies à l'analyse sont en annexes 13 et 14.

L'analyse en ACM permet de distribuer les différents ITK sur un diagramme en fonction de la polarisation de deux axes. L'axe 2 est très polarisé entre les modalités irrigation.4 d'une part steril\_sol.2 (voir figure 10 à gauche). Par exemple, les exploitations représentées par des points proches du pôle supérieur de l'axe 2 sont caractérisées surtout par des pratiques d'assainissement du sol de plein champ (steril.sol2).

L'axe 1 ne montre pas une polarisation très importante. En effet, les modalités ne s'organisent pas de manière évidente en groupes distincts suivant l'axe 1. L'analyse en classification ascendante hiérarchique (CAH) permet de lever le doute et d'analyser plus en détail les liens de ressemblance entre les ITK. Les groupes formés sur le dendrogramme sont comparés à la répartition des exploitations sur le graphique en ACM. De plus, en émettant un regard critique grâce à la connaissance du terrain, le nombre de groupe retenu s'élève à 5. Les différents groupes sont représentés par des figurés de couleurs différentes sur le dendrogramme et sur le diagramme de l'analyse en ACM.

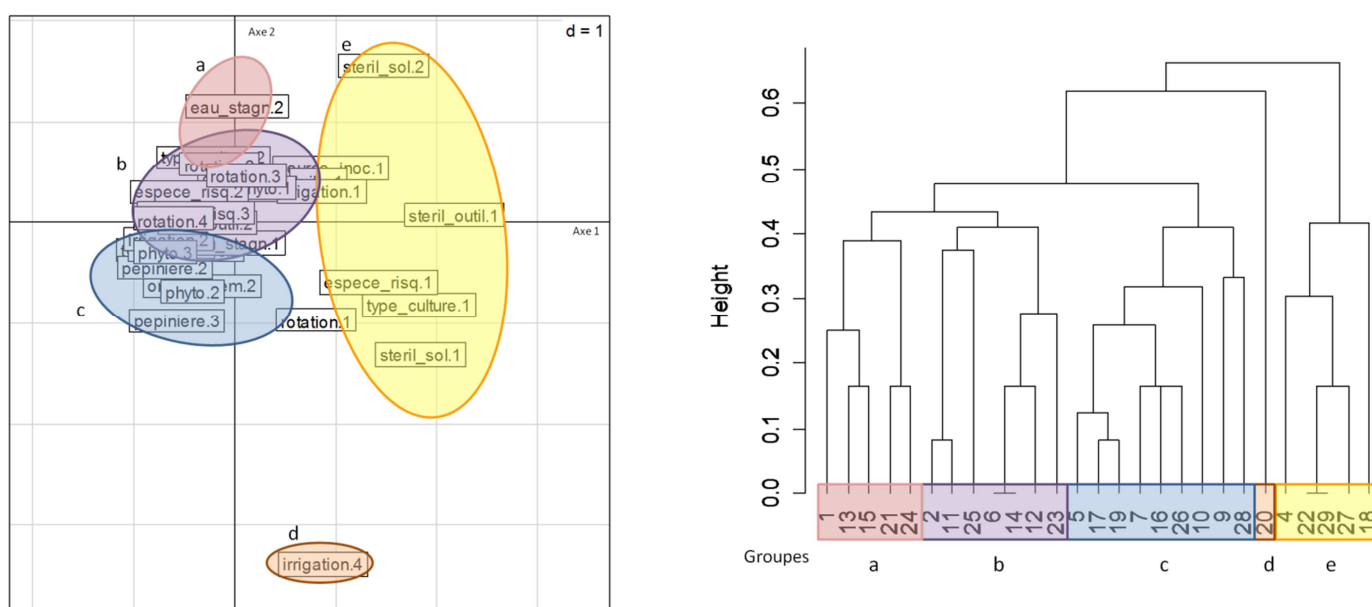


Figure 10 Diagramme de l'ACM à gauche et dendrogramme de la CAH à droite.

### iii. La typologie

#### LE GROUPE E : DES EXPLOITATIONS SPECIALISEES EN HORS SOL

##### Une minimisation de l'exposition au risque

Comme on peut le constater sur l'ACM (groupe jaune), les exploitants de ce groupe limitent au maximum les risques de contamination par le flétrissement bactérien. Les cultures sont d'ailleurs exemptes de la maladie. La culture se fait en hors sol dans un substrat artificiel sain (sable assaini par exemple). Un vide sanitaire est assuré régulièrement pour changer le revêtement plastique des sols (dans un cas sol en dur) qui empêche l'apparition de mauvaise herbe. Les outils de palissage et pots sont stérilisés entre les cultures. Ainsi, le problème des rotations ne se posent pas dans ce cas.

L'achat des semences est un poste d'investissement important afin d'avoir des variétés adaptées aux conditions de culture mais pas forcément résistante au flétrissement bactérien car il n'y a pas d'exposition à la bactérie.

La configuration des eaux de drainage par rapport aux racines des plantes se fait de manière à ce qu'il n'y ait pas de contact entre les deux. Une éventuelle contamination serait ainsi endiguée.

Deux ITK du groupe font exception sur certains points, les exploitations 4 et 18. En effet, la culture de tomate est en hors sol pour l'exploitation 4. Cependant sa culture de poivron et la culture de tomate de l'exploitation 8 se font en plein sol mais stérilisé. Malgré cela le flétrissement attaque les cultures. Pour chacune, des exploitations on peut noter l'existence de facteurs qui exposent à la contamination. Dans le premier cas, l'environnement est favorable à la contamination avec la culture de bananiers et de cucurbitacées. Dans le second cas, les fréquents épisodes d'inondation concourent à propager l'inoculum extérieur dans le sol stérilisé.

##### Une spécialisation de la production

Les exploitations sont orientées vers un nombre limité de produits du maraichage pas plus de 5 espèces. Deux des exploitations ne produisent que de la tomate.

##### Un ITK abouti

L'ITK est modulé en fonction des besoins des plantes. Une solution de fertirrigation basique (par goutte à goutte) est fournie en plusieurs cycles courts par jour. Des compléments sont apportés en fonction des stades végétatifs et de l'observation sur la culture. La taille sur la culture est objectivée pour assurer des gros calibres de fruit et diminuer l'appareil végétatif. Le semis en pépinière et le repiquage en serre sont calés pour assurer une production en continue. Les traitements phytosanitaires se font le plus souvent en curatif de manière ciblée. A l'exception d'une des exploitations qui fait des traitements importants systématiques. Les principaux problèmes phytosanitaires sont les aleurodes en saison sèche et les champignons en saison des pluies. Les performances agronomiques en termes de longueur des cycles et de rendements sont plus élevées en moyenne.

##### Une capitalisation importante et un fort souci de rentabilité

Il faut surtout noter la capitalisation importante de ces exploitations. Elles possèdent des surfaces couvertes importantes. En moyenne, 10 000m<sup>2</sup> pour 2 exploitations et 900m<sup>2</sup>



pour les autres exploitations du groupe. Elles ont également le moyen de conserver la production au frais. La rentabilité de l'exploitation sur le produit maraîcher est primordiale et l'ITK est façonné dans ce sens. De plus, la culture est maximisée en contre-saison (en saison des pluies) pour profiter des prix de ventes élevés alors que l'offre est faible sur le marché.

### LE GROUPE A : UNE BONNE PROPHYLAXIE

#### Les points critiques de l'itinéraire technique

Les agriculteurs de ce groupe ont une action de prophylaxie bien développée même si de nombreux points restent à la faveur du développement du flétrissement bactérien.

Les semences sont achetées évitant ainsi toute potentielle transmission du flétrissement par une semence produite sur l'exploitation (origin\_sem1). De même, l'achat des semences garantit un matériel génétique résistant pour ces agriculteurs qui cultivent en général, de la kalenda, du poivron narval ou de la tomate caraïbo. Le semis sur substrat sain en pépinière retarde la potentielle infection des plants et favorise un bon développement racinaire (pepinier1). Pendant la culture, les plants flétris sont enlevés au fur et à mesure ce qui limite la contamination par contact. En fin de culture l'arrachage des plants est rapide et limite la persistance de *R. solanacearum* dans les résidus de culture (source\_inoc1). La taille des aubergines est poussée : coupe des rejets latéraux, enlèvement des feuilles basses et gestion de la floraison pour favoriser la vigueur et grosseur du fruit. Pour les tomates et poivrons, un égourmandage est fait, un effeuillage régulier ainsi qu'un palissage sont effectués. Les rotations sont à tendance longue (rotation2) avec la culture d'aubergine systématique après une longue jachère ou après la plantation d'arbre fruitier. C'est moins le cas pour les tomates et poivrons qui sont en générales dans des rotations plus courtes mais incluant fréquemment des espèces à risque faible comme les herbes aromatiques ou la laitue.

Le point faible de ce groupe se situe au niveau du type d'espèces présentes dans l'exploitation ou dans les parcelles de solanacées. En effet, elles comportent des espèces à risque comme les bananiers ou les cucurbitacées (espece\_risq3). Inévitablement ces cultures se retrouvent, même avec une faible fréquence, en précédent d'une culture de solanacée. A cela vient s'ajouter une irrigation par aspersion qui peut non seulement favoriser la dissémination du flétrissement mais aussi fragiliser la plante en préparant un terrain propice aux infections fongiques.

Aucune pratique de stérilisation du sol ou des outils n'est effectuée. Mais c'est le cas pour la majorité des exploitations enquêtées pendant l'étude.

#### La culture des solanacées est variée et importante

Les exploitations du groupe numéro 1 se caractérisent par une culture de plein champ pour les aubergines. Pour les tomates et poivrons, l'alternance se fait entre la culture sous abris de plein sol pendant la saison des pluies et celle de plein champ pendant la saison sèche. On y cultive les trois espèces de manières régulières et souvent une autre espèce de solanacées en plus, le piment. En ce qui concerne les productions maraîchères, la culture des solanacées est prépondérante.

Le maraîchage est souvent une activité de complément par rapport à une activité animale (bovin) ou en arboriculture. L'exploitant est tout de même bien équipé en abris pour valoriser au mieux sa production à contre saison (environ 500m<sup>2</sup> de surface couverte).

### Une fertilisation et des pratiques d'amendements communes aux autres groupes

L'apport de fumier est quasiment systématique en fumure de fond. En moyenne entre 50 et 80kg pour 100m<sup>2</sup> sont apportés. L'amendement calcique est faible (environ 10 à 20kg pour 100m<sup>2</sup>). Contrairement aux autres groupes, le fumier et la chaux sont apportés sur toute la surface cultivable et dans le meilleur des cas, mélangés avec un motoculteur avant de repiquer la culture.

Les apports des nutriments se font par l'apport d'engrais ternaires. Le fractionnement type des apports de cette catégorie est le suivant : Du 3\*17 après repiquage, suivi d'un apport de 12\*12\*24 quelques semaines après puis du 12\*12\*24 lors de la floraison. L'apport se fait au pied de chaque plante à la main à raison d'une poignée environ par plante.

La durée des cycles se situe dans la moyenne de l'échantillon, c'est-à-dire environ 3 mois pour la tomate et le poivron et 7 à 8 mois pour l'aubergine. L'un des agriculteurs du groupe pratique des cycles de 15 mois en moyenne sur les aubergines grâce à une taille sévère des plants qui revigore la plante.

### LE GROUPE B : DES ITK RISQUES

#### Les facteurs dangers déterminants du groupe

La culture des tomates se fait sous abris en plein sol. Celle des aubergines se fait en plein champs sans aménagement d'irrigation. Les aubergines sont donc surtout plantées en saison des pluies. Elles ont malgré tout, pour les exploitations situées dans la zone 1 la plus sèche, subi un stress hydrique pendant le petit été de mars, ce qui a affaibli la culture.

L'ITK est catégorisé comme potentiellement plus risqué que celui du groupe précédent. En effet, les valeurs des variables tendent vers les extremums dangereux. Exception faite de la provenance des semences qui ne sont jamais multipliées par l'agriculteur et du semis en substrat sain dans des plaques de semis réservées à cet effet. Mis à part cela, les principales caractéristiques homogènes du groupe sont l'absence de l'arrachage des plants flétris pendant et après la culture de solanacée ainsi que la non stérilisation du sol. La taille des plants d'aubergine est quasi inexistante, elle se fait surtout pour rectifier une branche cassée ou un port qui ploie sous le poids des fruits. Les tomates ou poivrons sont au minimum palissés mais tardivement et la taille est irrégulière. De plus, les exploitations possèdent une forte proportion d'espèces à risques (bananes et cucurbitacées) et pratiquent en générale des rotations courtes entre deux cultures de solanacée ou alors peuvent se succéder deux espèces différentes mais de la famille des solanacées.

L'un des gros points faible reste l'utilisation non efficiente (à moduler selon l'exploitation) des produits phytosanitaires. Bien souvent les traitements sont systématiques et utilisent des produits à large spectre. Les ravageurs ou maladies ne sont pas reconnus et l'adéquation avec le pesticide correspondant ne peut être fait. Dans certains cas, 1 à 2 pesticides sont utilisés pour toutes les maladies de la culture qu'elles soient fongiques, bactériennes ou provoquées par des insectes. Au contraire, certaines exploitations ne traitent pas du tout, faute de moyens, bien que la pression parasitaire ne soit pas négligeable.

#### Des itinéraires techniques en refontes

L'importance croissante des TAP pour ces exploitations est récente. La culture principale n'est pas l'une des espèces de solanacées étudiées (sauf dans un cas de

monoculture de poivron). Elles ont essuyé plusieurs échecs de cultures en plein champs des tomates et poivrons à cause du flétrissement bactérien et de la pression fongique en plein champ. Aussi, l'implantation d'abris couplée en général à un système d'irrigation de goutte à goutte est récente sur ces exploitations. L'ITK est en court d'adaptation tant au niveau de la fertirrigation, qui se met progressivement en place, que de la lutte parasitaire.

#### Les méthodes de fertilisation et d'amendement

Certains agriculteurs se sont d'ores et déjà tournés vers la fertirrigation. Les éléments nutritifs sont envoyés par de nombreux cycles courts d'irrigation dans la journée. Le réseau peut shifter sur un apport unique en eau qui permet de réguler la quantité d'apport. D'autres utilisent toujours la fertilisation avec des engrais ternaires sur le même schéma global décrit dans le groupe A. La chaux est apportée dans les mêmes proportions que pour le groupe A. Par contre, elle est mélangée directement au fumier et apportée localement à l'endroit du repiquage des plants. Cette pratique peut entraîner de forte hétérogénéité du sol et "brûler" les racines des plantes.

### LE GROUPE C : DES ITK TRES RISQUES

#### Les facteurs dangers déterminants du groupe

Ce groupe peut être qualifié comme étant celui utilisant l'itinéraire technique le plus risqué. Les semences sont toujours multipliées par l'agriculteur ou échangées avec un autre agriculteur. Un tiers des agriculteurs du groupes sème directement les semences en vrac en plein champ. Ce groupe cultive majoritairement des aubergines en plein champ. Cependant, il est à noter que la culture de tomate et de poivron se fait aussi en plein champ sans abris pendant la saison des pluies dans deux des cas.

Aucune mesure de stérilisation n'est prise, ni l'arrachage des plantes contaminées. Les tailles ne sont pas réalisées (sur poivron et tomates aussi) bien qu'un tuteurage soit en place. La moitié des agriculteurs arrose les plantes par aspersion, y compris sous les serres.

A cela vient s'ajouter l'importance d'autres cultures à risque que les solanacées comme les cucurbitacées et les bananiers. De plus, les rotations se font souvent avec une alternance courte entre cucurbitacées et solanacées. Dans 30% des cas la présence de bananiers est à l'intérieur de la parcelle de solanacées. Cela peut venir d'un précédent bananier mal exterminé ou d'une stratégie pour rentabiliser le sol en attendant la pousse des bananiers.

#### Les méthodes de fertilisation et d'amendement

Elles sont les mêmes que pour le groupe précédent. A noter en plus que l'apport systématique en fumier est souvent couplé à un apport d'engrais 0\*25\*25 dans ce groupe.

### LE GROUPE D : UN CAS PARTICULIER DE SUBIRRIGATION

Ce groupe est constitué d'un seul individu qui présente un système de culture original mais fatal en cas d'exposition à un inoculum de flétrissement bactérien.

La culture se fait en hors sol dans de longs bacs de substrat de sable assaini (planche de culture). L'exploitant cultive des plants de poivron et tomate non résistants dont les semences sont obtenues en récupérant les graines des fruits mûrs de l'exploitation.

A la base l'exploitation est tournée vers la culture d'herbes aromatiques et de condiments. Les tomates et poivrons sont cultivés sur une petite surface à l'occasion d'un espace libéré par le jeu des rotations.

L'irrigation de chaque planche est faite grâce à un système de subirrigation. Le sable repose sur un lit de graviers arrosés avec une solution nutritive en bout de planche. L'eau se répand dans toute la couche de graviers et remonte par capillarité dans le sable. Les racines des plantes sont au contact les unes des autres. La solution d'irrigation peut transporter facilement un inoculum primaire de bactéries ou champignon tout le long de la planche et contaminer tous les plants qui s'y trouvent.

Cependant comme le substrat est stérilisé, l'exposition à un inoculum de *R. solanacearum* est très peu probable.

#### iv. La répartition géographique des groupes

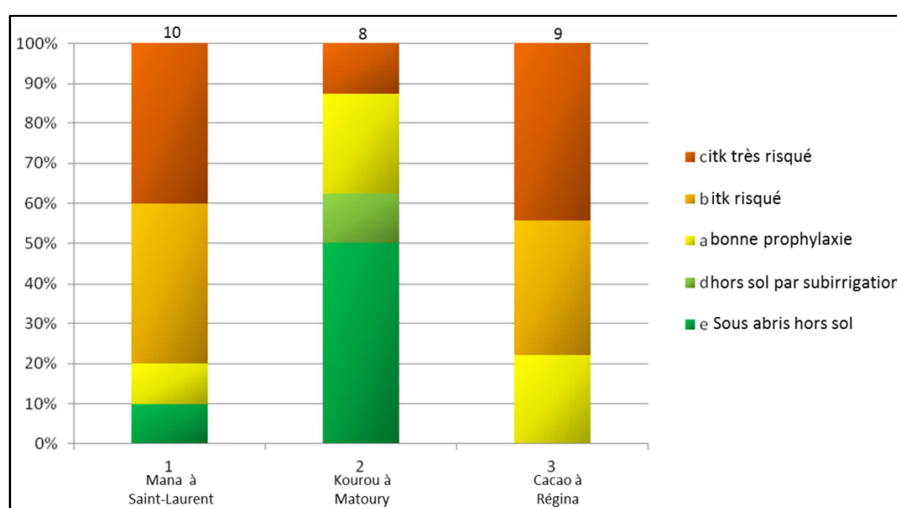


Figure 11 Répartition géographique des groupes d'ITK

La zone 2 concentre les agriculteurs ayant des pratiques peu risquées. Elle comporte un cas d'ITK très risqué qui correspond en fait à une exploitation en cours d'installation. Dans le but de limiter l'investissement de départ (travail du sol, engrais ...) l'agriculteur a choisi de cultiver de l'aubergine sur la même parcelle que celle de bananier en attendant que ces derniers entre en fructification. (exploitation 7)

Les zones une et deux ont une forte proportion d'ITK risqués à très risqués, 80% dans chacune de ces zones. Les ITK risqués à très risqués représentent 60% de l'échantillon total d'agriculteurs enquêtés. Ces ITK sont très représentatifs de la manière commune de cultiver des produits du maraîchage dans ces zones. A noter que dans la zone 1 et pour des ITK risqués à très risqués on retrouve deux exploitations typiques du mode de culture en abattis-brulis semi-sédentarisés (exploitations 26 et 23)

## v. Quelques éléments déterminants les stratégies adoptées par les agriculteurs

Le but de l'étude était de déterminer comment les agriculteurs cultivent les TAP. Cependant, le travail d'enquête a aussi permis de comprendre dans certains cas pourquoi les agriculteurs adoptent telle ou telle pratique pour continuer à atteindre ses objectifs de productions. Quelques éléments déterminants l'adoption ou non d'une stratégie de lutte sont explicités ci-dessous.

### LE MATERIEL GENETIQUE, PRINCIPALE METHODE DE LUTTE CONTRE LE FLETRISSEMENT BACTERIEN, TRES PEU UTILISE EN GUYANE

Il est surprenant de constater que dans 55% des cas, l'agriculteur utilise des semences multipliées par ses soins ou des variétés non sélectionnées pour leur résistance au flétrissement bactérien. En général les exploitations en hors-sol ne choisissent pas des variétés résistantes car elles ont peu de probabilité d'être exposées à un inoculum de bactéries.

Pour le reste des exploitations, la multiplication des semences implique un danger de contamination par la semence. L'agriculteur peut récupérer des semences déjà multipliées par un autre agriculteur et commencer à faire sa propre production de semences par la suite. Il peut acheter un petit lot de semences (résistantes ou non) dans le commerce puis les multiplier lui-même. Les semences résistantes sont en général des hybrides f1. Récupérer les graines dans les fruits a pour effet de diminuer la résistance génétique de la population de plantes obtenues. Cela entraîne également une grande hétérogénéité du peuplement végétal en termes de caractéristiques agronomiques (fruits, rendement ...).

Lorsque des variétés résistantes sont utilisées, il s'agit souvent d'anciennes obtentions dont la résistance est dépassée. Par exemple, la Caraïbo est souvent utilisée pour les tomates mais elle montre en Martinique depuis plusieurs années sa sensibilité croissante au flétrissement bactérien. Des variétés, comme Hawaii7996, reconnues comme variétés résistantes de référence ne sont pas utilisées (d'après les infos communiqués, le secret sur les variétés utilisés étant souvent la norme). Plus généralement, les nouvelles obtentions variétales sont loin d'être communément cultivées en Guyane.

A cela, plusieurs causes. En premier lieu, c'est un choix de l'agriculteur de ne pas investir dans le poste semence de son exploitation. Beaucoup d'agriculteurs voient l'achat de semences comme un investissement facultatif. C'est le cas surtout dans les exploitations qui n'ont pas la capacité de financer l'achat de semences pour continuer à produire les mêmes surfaces. Devant la perte qu'occasionne le flétrissement bactérien, les agriculteurs ne veulent pas risquer d'investir dans des semences qui ne produiront peut-être rien. En fait et surtout, des données de base sur le comportement des variétés dites résistantes dans le contexte guyanais manquent énormément pour conforter l'agriculteur dans l'investissement dans ce poste crucial de lutte génétique.

### DE GRANDES SURFACES DISPONIBLES

Lorsque les agriculteurs possèdent une SAU disponible élevée, ils adoptent souvent une stratégie axée sur la jachère. La disponibilité en terre leur permet d'organiser des rotations

à cycle très long. C'est surtout le cas pour l'aubergine qui se fait uniquement en plein champs mais aussi pour la tomate et le poivron de saison sèche. Par exemple, un agriculteur ne cultive de l'aubergine que sur des parcelles mises en jachère au minimum 2 à 3 ans. Plus généralement, ce sont des rotations longues après des arbres fruitiers ou des jachères d'un an qui limitent la pression en inoculum du sol et permettent d'assurer de meilleur rendement.

Toujours dans le cas d'exploitations à grandes surfaces, une autre stratégie est de palier la perte prévue par le flétrissement bactérien en cultivant sur de plus grandes surfaces. Même si les rendements sont bas, l'objectif de volume à produire est assuré.

L'adoption de ces stratégies est déterminée par le fait d'avoir une grande surface disponible car l'agriculteur veut par ailleurs maintenir l'importance de la production des autres espèces. En effet, les agriculteurs cultivent un grand nombre d'espèces différentes (souvent une dizaine voir plus), ce qui laisseraient peu de marge de manœuvre sur des petites surfaces occupées toute l'année.

#### UNE CAPACITE D'INVESTISSEMENT FAIBLE

Dans beaucoup de cas la capitalisation dans du matériel qui permettrait d'améliorer la lutte contre le flétrissement bactérien n'est pas possible à cause de faibles capacités d'investissement. L'achat de serre, même en bois, est un investissement que ne peuvent assurer beaucoup d'exploitants. De même pour l'achat d'un système d'irrigation aux gouttes à gouttes, de semences résistantes, etc.

C'est surtout le cas pour des exploitants dont la rentabilité de l'exploitation entière est faible car elle n'est pas adossée à un autre atelier comme l'arboriculture qui rapporte plus car subventionné et moins demandeuse en main d'œuvre. Il s'agit aussi d'exploitations jeunes qui ne peuvent encore capitaliser. Le faible taux d'aides allouées aux agriculteurs est en partie explicatif de la faible capacité d'investissement. En effet, seulement 3% des agriculteurs en Guyane touchent des subventions et parmi les maraichers encore moins (culture non subventionnées). De même, l'accès à certaines aides est conditionnée à ce que l'exploitant ait une formation agricole ce qui n'est pas souvent le cas. (partie 3.b.ii)

#### DES OBJECTIFS DE PRODUCTION FAIBLES

Dans certains cas, les objectifs de rendement et de rentabilité sont faibles pour la culture de solanacées et pour être atteints, ils ne nécessitent pas la mise en place de stratégies de lutte poussées.

C'est souvent le cas lorsque les tomates (aubergines ou poivron) sont des produits de diversification de l'offre au client mais ne font pas parties des productions principales. Il s'agit aussi d'exploitations qui veulent juste s'assurer un revenu pour vivre et continuer à produire. C'est le cas pour les deux exploitations du type abattis-brulis en zone 1.

#### L'ENCADREMENT TECHNIQUE

Enfin, l'encadrement technique à son importance dans l'adoption de stratégie de lutte. C'est le cas comme mentionné avant pour les connaissances des variétés dans le contexte guyanais. Il est également déterminant dans le choix de méthodes de lutttes nouvelles et encore inconnues par l'agriculteur. Par exemple, l'acquisition de connaissances sur le greffage de



solanacées sur porte greffes résistants n'est possible que grâce à un transfert de savoir-faire aux agriculteurs et à l'accompagnement de la mise en place de la technique dans le cadre particulier de chaque exploitation. De même pour, le passage de la culture de plein champ à un système en hors sol ou sous abris. Il ne semble pas que les agriculteurs aient le réflexe de se tourner vers des organismes de conseils agricoles (et réciproquement).

## vi. Limites et perspectives

### FAUDRAIT-IL QUE LES AGRICULTEURS ADOPTENT TOUS L'ITK DU GROUPE E ?

La culture spécialisée en hors sol de la tomate ou du poivron montre de nombreux atouts en termes de lutte contre le flétrissement bactérien, mais aussi contre toutes les maladies telluriques. Elle permet d'assurer une bonne performance agronomique également. Cependant, généraliser ce type de pratique ne semble pas souhaitable ou possible dans le contexte présent.

Tout d'abord la culture en hors sol présente aussi des inconvénients. Les abris une fois installés sont statiques et la pression en ravageurs (insectes) se développe intensément. Si les maladies telluriques sont évitées, il faut gérer la pression en maladies fongiques pendant la saison des pluies. De plus, la gestion de l'irrigation devient complexe lorsque la quantité de surfaces couvertes augmente. Elle nécessite de mettre en place des systèmes d'automatisation de l'irrigation.

En outre, comme on l'a déjà mentionné, tous les agriculteurs ne possèdent pas la capacité initiale pour investir dans des abris ou des systèmes d'irrigation. Investir dans de telles structures nécessite de les rentabiliser. Il faut pouvoir fournir une main d'œuvre importante pour faire tourner l'exploitation.

La monoculture (ou la culture de 2 ou 3 espèces) ne semble pas être le meilleur choix à la vue du mode de vente habituel des agriculteurs. Les agriculteurs vendent directement leur production au marché dans la grande majorité des cas. La vente de plusieurs légumes différents attire et fidélise le client. La culture de plusieurs espèces permet également à l'agriculteur de répartir les risques phytosanitaires et d'assurer un volume de vente minimal. Il serait dommage de pousser à la spécialisation extrême des agriculteurs à l'heure où l'on voit les inconvénients économiques que cela peut comporter. D'ailleurs le débat vers la déspecialisation des maraichers et arboriculteur en métropole est d'actualité. De nombreux agriculteurs font le choix de retourner à une agriculture plus diversifiée et plus proches du consommateur au travers de différents types de réseaux de vente en circuit court comme c'est déjà le cas en Guyane.

Forte heureusement, les marges de progrès des ITK des agriculteurs sont considérables. L'amélioration du suivi des cultures, le perfectionnement technique des agriculteurs et l'adoption de méthodes performantes de lutte parasitaire (génétique, stérilisation ...) sont autant de points qui pourraient être améliorés et rendre la culture de plein sol plus productive.

### REPRESENTATIVITE DE L'ECHANTILLON CHOISI

Des données récentes préalablement existantes sur les itinéraires techniques des maraichers en Guyane n'ont pu être trouvées. Aussi, l'étape de première caractérisation de la

population puis de sélection des agriculteurs à enquêter n'a pu être menée de manière pertinente. Cependant, la connaissance terrain des différents experts rencontrés a permis d'enquêter des agriculteurs qu'ils jugeaient avoir des pratiques différentes de la moyenne des agriculteurs. Par contre certains agriculteurs présentant des itinéraires techniques intéressants (hors sol ou greffage) ont refusé d'être enquêtés.

Selon le recensement 2000 le nombre d'exploitations en culture légumière s'élève à 660 sur le littoral. La définition de l'exploitation agricole utilisée est très large pour le recensement. Elle considère toute unité de production agricole d'au moins 1ha de SAU ou 20ares de cultures spécialisées (les abattis sont classés dans cette dernière catégorie).

A l'inverse, on a plutôt cherché à contacter des agriculteurs qui avaient une réelle activité de vente et qui s'inséraient (à différent degré) dans la filière de légumes en Guyane. Ainsi, bien que les agriculteurs de type abattis brûlis représentent 70% des agriculteurs de Guyane ils sont sous représentés dans l'échantillon. En effet, l'étude s'est portée sur le littoral alors que la majorité de ces agriculteurs sont dans les communes de l'intérieur. De plus, ils cultivent très peu fréquemment des aubergines et quasiment rarement des tomates ou des poivrons.

D'un autre côté, selon l'enquête agreste 2007 sur la structure des exploitations en Guyane, 68 exploitations ont une orientation (OTEX) maraichère ou horticole pour une surface de 331ha de culture en légume frais. Selon les données de la DAAF, 55 agriculteurs déclarent avoir une activité de culture de légumes de plein champ. On peut donc considérer que l'échantillon des 29 agriculteurs enquêtés est assez important en quantité. Toujours selon la même source, les cultures de légumes se répartissent à 54% dans la zone 1, 16% dans la zone 2 et 30% dans la zone 3. La distribution des maraichers est inégale entre les zones alors que l'échantillon d'étude est équiréparti entre les zones. Les agriculteurs de la zone 1 sont sous représentés. La comparaison est possible en fin de stage mais ces données étaient indisponibles au début de la période d'enquête.

### L'AMELIORATION DE L'ENQUETE ET DES DONNEES COLLECTEES

L'enquête a bien sûr évoluée tout au long de la période dédiée à la collecte de données. Vers la fin, la connaissance du terrain s'est améliorée et les points originaux de certains ITK ont pu être relevés grâce à la connaissance des cas précédents. Ainsi les données récoltées en fin d'étude sont plus riches et mieux ciblées. D'autre part, la qualité des données est altérée par le faible "suivi" des parcelles par les agriculteurs. En effet, ils notent rarement les actions menées sur les cultures. De plus, les doses employées en termes de pesticides et d'engrais ne sont en général pas notées et pas calibrées pour une surface à traiter.

L'évaluation des rendements est difficile (ou ne veut peut être pas être communiquée) et il a été impossible d'avoir des chiffres de rendement pour un cycle total de culture (sauf dans quelques cas). Au mieux l'agriculteur donne une quantité produite pour une semaine en particulier du cycle. Mais cela n'est pas représentatif car la production varie en début et fin de période de récolte. Il a été choisi de ne pas analyser et comparer les rendements dans la typologie des groupes car cela pourrait amener à des conclusions fausses.

### RELATIVISER LA TYPOLOGIE DES ITK

Il convient de noter que la typologie évalue le danger porté par les itinéraires techniques et non le degré d'incidence de la maladie dans les exploitations. Il peut y avoir un danger élevé dans certaines exploitations mais si les cultures ne sont exposées à aucun inoculum de *R. solanacearum*, elles ne seront jamais contaminées.

On peut considérer que dans tous les cas rencontrés la bactérie était présente dans l'environnement proche de la culture. L'environnement est justement le facteur qu'il faudrait caractériser avec plus de pertinence pour améliorer la typologie. Beaucoup de variable peuvent être suggérer comme des données météorologiques locale, l'acidité des sols, la contamination des eaux d'irrigation, etc. Toutes ces données permettraient de pouvoir mieux prendre en compte l'interaction entre les pratiques et le milieu et d'aboutir à une typologie plus complète.

### PEU DE DONNEES DISCUTABLES SUR LES RENDEMENTS ET L'INCIDENCE DU FB

Les groupes donnent tout de même une bonne idée de la présence ou non de cultures flétries dans les différentes exploitations. En effet, la présence ou non de flétrissement dans les exploitations enquêtées correspond à leur distribution dans les groupes.

Cependant, l'incidence de la maladie ne peut pas être plus discutée et la comparaison des incidences entre exploitations a été jugée non pertinente dans les conditions de collecte des données. En effet, les visites ponctuelles sur les exploitations permettaient de relever une seule observation d'incidence sur les cultures. Il aurait fallu assurer un suivi sur un cycle de culture pour avoir des données interprétables. Dans le cas où l'agriculteur arrachent les plants flétris (ou malade d'un autre pathogène) au fur et à mesure, il est impossible de calculer l'incidence de la maladie. De plus, l'âge des cultures n'était pas le même entre les différentes exploitations, ce qui aurait rajouté un biais supplémentaire à l'interprétation des données.

### UN TRAVAIL DE COLLECTE DES DONNEES COMPLEXE A PREVOIR POUR L'APPLICATION DU PLAN ECOPHYTO

L'étude a permis de mettre en lumière quelques grandes tendances d'utilisation des produits phytosanitaires. Elle a confirmé l'usage de pratiques non légales comme la stérilisation des sols avec des substances non autorisées, l'utilisation de produits venant du Surinam ou l'utilisation de produits autorisés mais pas pour l'usage qui en est fait (interdit pour la culture ou le pathogène ciblé).

Le jeu de molécules actives utilisées dans une même exploitation et sur l'ensemble des exploitations maraichères enquêtées est faible, Une dizaine de produits différents a été mentionnés par les agriculteurs. Les produits les plus utilisés sont le vertimec, le decis ou le karaté.

La collecte des données qui permettront de calculer des indicateurs comme l'IFT (indice de fréquence de traitement) est une étape cruciale. Cependant ces données seront-elles fiables ? Au vu du suivi effectué par les agriculteurs cela semble discutable. Les passages de pesticides ne sont pas consignés pour la plupart et les doses employées sont imprécises (au niveau du dosage).

De plus, un gros effort de caractérisation est à prévoir puisque pour évaluer la diminution d'utilisation il faut quantifier la situation de départ. Un rapport datant de 2001 existe (création d'une base de données sur l'utilisation des pesticides en Guyane, direction régionale de l'environnement) cependant les doses considérées ont été standardisées à 20mL ou 50mL pour toute quantité de surfaces traitées et la fréquence de traitement à 1/semaine. Le travail minutieux et important se situe justement dans la caractérisation au plus près de la réalité des doses et fréquence de traitement.

## b. Caractérisation moléculaire des souches de Guyane

Au total 174 souches de *R. solanacearum* ont été isolées dans 19 exploitations différentes. Parmi celles-ci, 124 souches isolées dans 8 exploitations différentes répondant aux critères détaillés dans la partie méthodologie ont été analysées. Les photos des gels révélés se trouvent en annexe n°15. On rappelle, en particulier, que les 3 espèces (tomate aubergine poivron) ont été échantillonnées dans chacune des zones. Le tableau de données utilisées est en annexe n°16 ainsi que le script 'R' utilisé pour les analyser (annexe 17). Le résultat de l'ACM est présenté ci-dessous et permet d'avoir une première vue d'ensemble des caractéristiques du jeu de données.

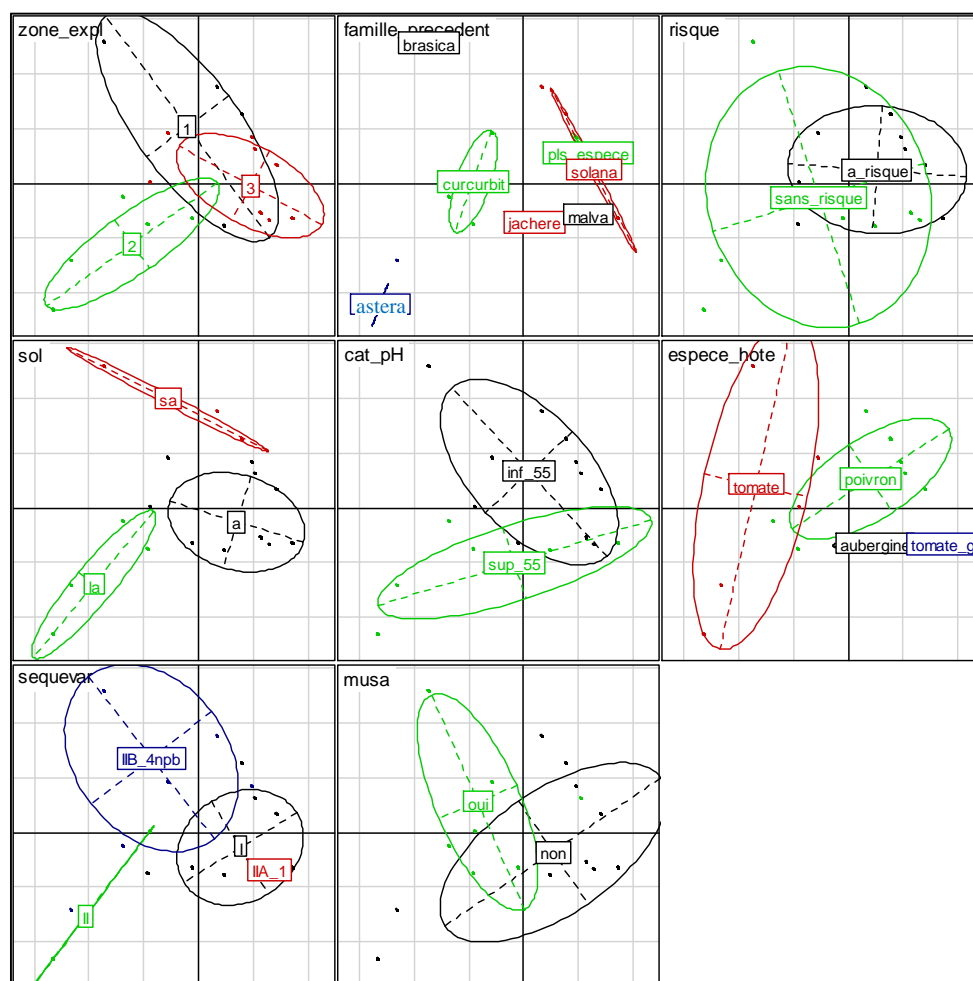


Figure 12 ACM des variables explicatives

Le même plan factoriel est représenté pour chaque variable prise en compte dans l'analyse statistique (8 variables). Sur chaque plan sont représentés les points qui correspondent à une souche isolée et dont le phylotype a été caractérisé. Les ellipses regroupent les points qui prennent la même modalité pour chaque variable considérée.

On constate que le plan factoriel oppose la zone géographique 2 aux zones 1 et 3 qui se superposent sur le graphique. En effet, les exploitations où ont été isolées les souches de la zone 2 ont des caractéristiques bien distinctes à celle des deux autres zones. Par superposition mentale des graphiques, on peut conclure qu'en zone 2, les exploitations avaient un sol plutôt argilo-limoneux et ont donné lieu à l'isolement d'une grande partie des souches de phylotype II de l'échantillon.

D'autre part, on constate que les exploitations où on retrouve des souches du phylotypeII/séquévar4NPB sont surtout dans la zone 1 et que les souches du phylotypeII/séquévar1 ne sont que dans la zone 3.

Enfin les exploitations échantillonnées où des bananiers sont présents sont réparties surtout dans la zone 1 mais aussi un peu en zone 2.

### i. Caractéristiques générales de la population isolée

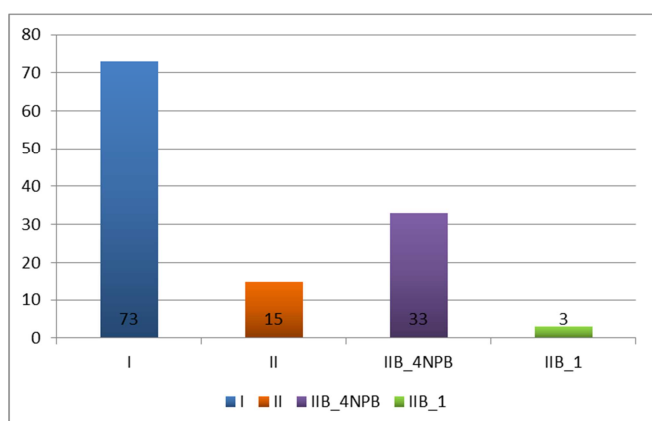


Figure 13 les différents types de souches caractérisées et leur importance en quantité

On retrouve une majorité de phylotype I (de séquévars non identifiés) dans la population de *R. solanacearum* isolée. Le phylotypeII/séquévar4NPB représente 26,7% des isolats, suivi par les souches de phylotype II (autre que séquévars 1, 3, 4, 6, 24 et 4NPB) puis par 3 souches de phylotypeII/séquévar1.

### ii. Distribution géographique

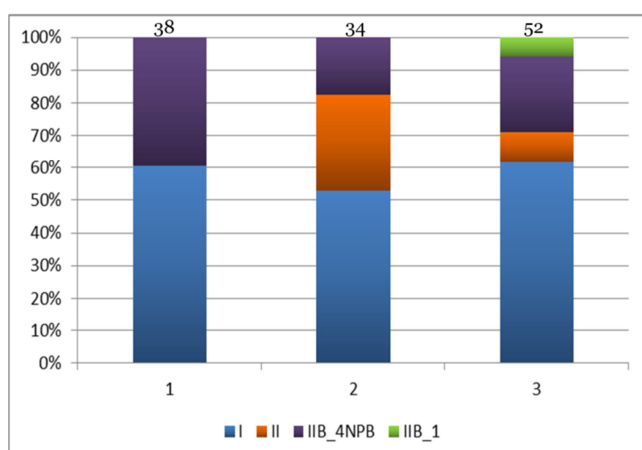


Figure 14 Distribution des phylotypes en fonction des zones

La distribution géographique des souches diffère significativement d'une zone à l'autre. En effet, le test de Fisher indique une p-value très faible de  $1,4 \times 10^{-3}$ . Comme le montre le résultat de l'ACM, la zone 2 se différencie plus nettement des zones 1 et 3 où les souches de phylotype I et phylotypeII/séquévar4NPB sont majoritaires. La zone 1 se distingue par sa très forte

concentration en souches phylotypeII/sé-quévar4NPB et l'absence de souche de phylotype II.

La zone 3 est la seule où l'on retrouve le phylotypeII/séquévar1 (souches provenant d'une même exploitation). Dans 6 exploitations sur 8, la population de *R. solanacearum* échantillonnée est hétérogène et constitue un mélange de deux phylotypes différents.

### iii. Distribution selon l'hôte

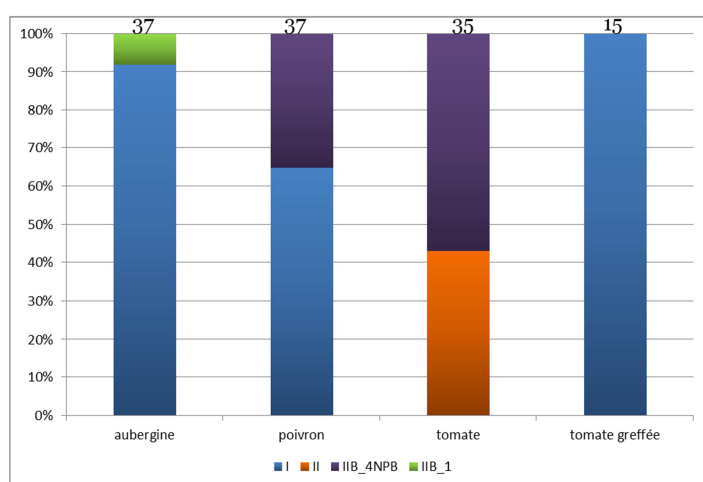


Figure 15 Distribution des phylotypes en fonction de l'hôte

En fonction de l'hôte sur lequel a été prélevé la souche, on retrouve une population de *R. solanacearum* génétiquement différente (pvalue du test de Fisher à  $2,2 \times 10^{-16}$ ). Dans une précédente étude en Martinique (Wicker, 2007) les souches phylotypeII/séquévar4NPB avaient été retrouvées uniquement sur tomates. Ici, en plus de retrouver une forte concentration de souches appartenant au phylotypeII/séquévar4NPB sur tomate, on les retrouve également sur poivrons.

On ne retrouve pas de phylotypeII/séquévar4NPB sur les aubergines mais presque exclusivement des souches du phylotype I.

Un résultat intéressant est la différence génétique observée entre les souches prélevées sur tomates et celles prélevées sur tomates greffées. Alors qu'on ne retrouve que des souches du phylotypeII/4NPB et phylotype II d'autres séquévars sur tomate, on retrouve exclusivement des souches du phylotype I sur la tomate greffée. Il faut préciser que les tomates greffées ont été échantillonnées dans une exploitation où les phylotypes I et phylotypeII/séquévar4NPB ont été retrouvés sur poivron à une vingtaine de mètres des tomates greffées.

### iv. Distribution selon le précédent cultural et la présence de bananiers

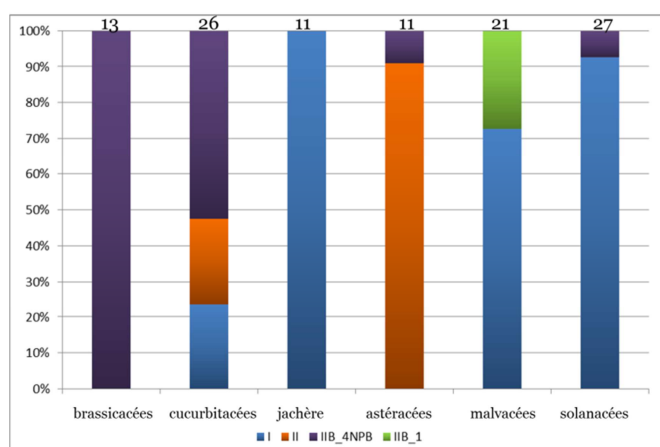


Figure 16 Distribution des phylotypes en fonction de la famille du précédent

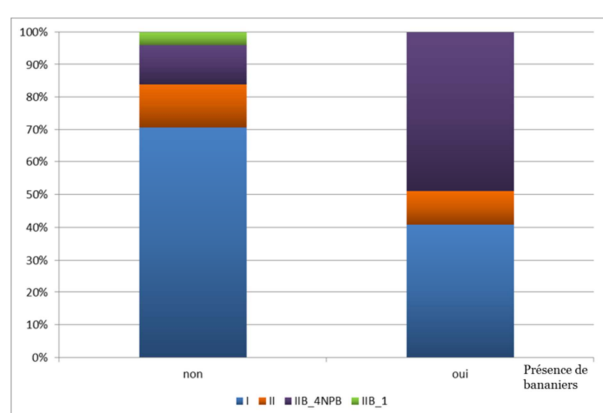
La distribution des phylotypes diffère de manière significative en fonction du précédent cultural (pvalue du test du chi-2 de  $2,2 \times 10^{-16}$ ). Il ne faut donc pas seulement prendre en compte l'hôte mais aussi le précédent cultural pour expliquer la structure génétique de la population de *R. solanacearum* retrouvée dans une exploitation. Les résultats montrent qu'un précédent jachère favorise la présence du phylotype I sur la culture suivante. Les cucurbitacées pour lesquelles les souches



phylotypeII/séquévar4NPB sont virulentes, favorisent la présence de souches du phylotypeII/séquévar4NPB sur la culture suivante.

De manière inattendue, on retrouve en majorité des souches du phylotype I pour les précédents en solanacées alors que celles-ci sont les hôtes préférentielles des souches du phylotypeII/séquévar4NPB. Il convient de préciser que les précédents en solanacée concernés sont soit des tomates ou des poivrons (pas de précédent en aubergine sur l'ensemble des parcelles échantillonnées).

Autre cas inattendu : l'unique présence de souches du phylotypeII/séquévar4NPB pour un précédent en brassicacées (du chou) dans une exploitation de la zone 1 alors que les brassicacées ne sont pas connu comme hôte de *R. solanacearum*. Cela s'explique peut-être par un précédent sensible à *R. solanacearum* cultivé avant le cycle court de la culture de chou (2 mois) mais l'information n'est pas disponible.



**Figure 17 Distribution des phylotypes selon la présence ou non de bananiers dans les exploitations**

D'autre part, la présence des souches du phylotypeII/séquévar4NPB dans la culture est plus importante lorsque que la présence de bananiers aux abords ou dans la parcelle échantillonnée est vérifiée. Un test de Fisher montre que ce résultat est significatif (pvalue du test de Fisher à  $3,9 \times 10^{-5}$ ).

En regroupant les précédents selon qu'ils soient hôte ou non de la bactérie, on obtient la variable 'risque' dont la représentation graphique est faite dans l'ACM. Un test de Fischer indique que cette variable n'a pas d'effet sur la répartition des phylotypes (pvalue=0,12). Cela est sans doute dû au fait que le précédent brassicacée (classé dans culture sans risque) donne lieu au prélèvement de souches phylotypeII/séquévar4NPB.

Enfin, bien que les variables sol et cat\_ph aient un effet significatif (pvalues respectives du test de Fisher :  $1,9 \times 10^{-8}$  et  $1,9 \times 10^{-3}$ ) sur la distribution génétique de *R. solanacearum* il serait hasardeux de conclure à un lien de cause à effet vu la complexité du phénomène et le peu de données bibliographique sur la relation entre texture du sol, pH et génétique de la population de *R. solanacearum*. Ces variables sont plus logiquement corrélées aux types de cultures dont dépend ensuite la distribution génétique de *R. solanacearum*.

## v. Discussion

Les résultats du phylotypage correspondent à ceux que l'on pouvait attendre. En effet, on ne retrouve que des souches des phylotypes I et II provenant géographiquement de l'Asie ou de l'Amérique. C'est le cas en Martinique et dans les autres pays d'Amérique du sud. La présence du phylotypeII/séquévar4NPB maintenant attesté en Guyane complète la courte liste

des pays où l'on sait que le phylotypeII/séquévar4NPB est présent. En effet, il n'a été retrouvé qu'en Martinique, Brésil et Trinidad.

Le fait de ne retrouver que des souches du phylotypeI sur les aubergines explique peut-être en partie qu'on retrouve une moins forte agressivité du flétrissement bactérien dans les cultures d'aubergines en Guyane. En effet, le phylotypeII/séquévar4NPB est connu pour son agressivité supérieure aux autres types de souches. Cependant, il faut modérer cette hypothèse puisque le phylotype ne donne pas une information complète sur la pathogénicité des souches. On peut ainsi trouver des souches du phylotype I plus agressives que celles du phylotypeII/séquévar4NPB sur aubergine (Lebeau *et al.*, 2011). On peut supposer que les souches de phylotypeII/séquévarI échantillonnées dans ces cas-là sont de faible agressivité. Des tests de pathogénicité permettraient de confirmer cela.

L'échantillonnage sur tomates greffées a donné lieu à l'isolement de bactéries du phylotype I uniquement. Le porte-greffe *solanum torvum* (aubergine sauvage) utilisé dans ce cas est sans doute préférentiellement attaqué par des souches du phylotype I. Cette hypothèse est corroborée par le fait qu'on ne retrouve que des souches du phylotype I sur les aubergines. Ainsi, il est possible que le greffon infecté bien que tolérant ait transmis passivement les souches de phylotype I au greffon de tomate.

Les phylotypes des souches retrouvées sur les cultures après un précédent cultural en solanacées (tomate, poivron) sont en majorité des souches du phylotype I et dans une moindre mesure des souches du phylotypeII/séquévar4NPB. Des résultats similaires ont été trouvés dans une étude de Wicker en 2007. Dans le cas présent cela s'explique simplement par le fait que les cultures échantillonnées après un précédent cultural en solanacées sont des poivrons et des tomates greffées. Sur ces dernières n'ont été isolées que des souches du phylotype I, ce qui explique la forte proportion de souches du phylotype I après un précédent cultural en solanacée dans l'échantillon de notre étude.

A la lumière des connaissances sur le flétrissement, la présence des souches du phylotypeII/séquévar1 sur aubergine ne peut pas s'expliquer par le précédent en malvacée (des gombos), non sensible à *R. solanacearum*. Par contre, des dachines (ou taro) ont été cultivées sur cette parcelle. Le phylotype II séquévar 1 regroupe les souches anciennement classées dans la race 3 biovar 2 qui causent la pourriture brune de la pomme de terre mais aussi le flétrissement de la dachine (source : cab international). On peut émettre l'hypothèse que la présence de souches de phylotypeII/séquévar1 vient donc du précédent dachine.

Enfin, la présence exclusive de souches du phylotypeII/séquévar4NPB après un précédent cultural de chou peut s'expliquer par deux hypothèses. Le chou pourrait être une espèce hôte asymptomatique et favoriser la multiplication de la bactérie dans la plante et le sol (Arthy *et al.*, 2005). D'autre part la présence de bananiers dans l'exploitation non loin des parcelles infectées aurait pu favoriser la multiplication des souches de phylotypeII/séquévar4NPB puisqu'ils sont hôtes asymptomatiques de la bactérie (Wicker *et al.*, 2007).

Le phylotypage des souches a concerné un petit nombre de souches (124) et il serait souhaitable de phylotyper plus de souches pour mieux caractériser une population dont on sait que la variabilité génétique est élevée. En premier lieu, le reste des souches mises en

collection pendant cette campagne de prélèvement pourrait être phylotypée. En second lieu, le prolongement des campagnes de prélèvements de *R. solanacearum* en routine peut alimenter à long terme le jeu de souches en collection.

Dans cette étude, le choix a été fait de prélever une dizaine de souches par exploitation pour avoir une idée de la variabilité génétique intra-parcellaire de la population de *R. solanacearum*. Cependant, on peut également ne prélever que quelques souches (2 à 3) dans chacune des exploitations visitées pour augmenter la diversité de provenance géographique des souches et avoir une plus grande précision sur la distribution géographique des différents séquévars de *R. solanacearum*.

De plus, les séquévars de toutes les souches de l'étude n'ont pas été déterminés (souches dénommées dans le rapport phylotype I et II sans précision du séquévar). Pousser l'analyse de polymorphisme génétique plus loin permettrait de déterminer tous les séquévars. Dans le même temps, cela permettrait de replacer le jeu de souches guyanaises dans l'arbre phylogénétique de *R. solanacearum* expliquant déjà les liens de parenté entre des souches mondialement collectées.

L'échantillonnage de souches du phylotypeII/séquévar4NPB sur poivron suggère l'existence de souches ayant un pathotype différent de celles trouvées en Martinique. Des tests de pouvoir pathogène seraient intéressants à entreprendre afin d'avoir plus de précision sur la virulence et l'agressivité de ces souches vis-à-vis des différentes espèces de solanacées.

Des zones de la Guyane restent à explorer comme la frontière ouest bordant le fleuve du Maroni où des exploitations de type abattis brûlis dominent mais aussi l'intérieur du pays. Elles seraient peut-être un terrain propice à l'isolement de souches primitives qui pourraient apporter de nouveaux éléments à la compréhension du lien de parenté entre souches moko et souches du phylotypeII/séquévar4NPB.

## vi. Les conclusions pratiques de l'étude

L'étude confirme et apporte de nouveaux éléments sur l'épidémiologie de *R. solanacearum*. On peut en tirer également quelques conclusions pratiques pour les agriculteurs qui font échos à la partie 6.a.

Avant cette campagne de prélèvement, la présence des souches du phylotypeII/séquévar4NPB était attestée uniquement dans une exploitation de Matiti située en zone 2 (Rapport d'expertise 2010 de P. DEBERDT, CIRAD Martinique). Les résultats de l'étude montrent que le phylotypeII/séquévar4NPB est bien implanté dans les 3 principaux bassins maraichers du littoral de Guyane ce qui pourrait expliquer en partie la difficulté des agriculteurs à cultiver des solanacées devant la forte agressivité de cette souche.

Celle-ci se retrouve sur poivron et tomate d'où la nécessité d'augmenter le niveau de prophylaxie des ITK en particulier pour ces deux cultures. La culture de bananiers dans les exploitations où le flétrissement bactérien se manifeste est à éviter pour ne pas favoriser la persistance des souches du phylotypeII/séquévar4NPB. De même pour les rotations cucurbitacées → solanacées. De manière générale, l'effet du précédent se fait sentir à moyen-long terme sur la population de *R. solanacearum* isolée dans les exploitations de l'étude (voir

cas du précédent en cucurbitacées et malvacées) et il est mieux d'inclure les solanacées dans un cycle de rotation sans autre hôte sensible à *R. solanacearum*.

### c. Essai de criblage variétal

Suite à des contraintes pratiques le dispositif expérimental a dû être repensé. En effet, un très faible taux de germination des semences a fait que certaines variétés ont dû être exclues de l'expérience et le nombre de répétition par traitement a été réduit à 8 par traitement. Les variétés testées sont donc les suivantes :

Tomates		Aubergines	Poivrons
calinago <sup>b</sup>	mongal <sup>b</sup>	african beauty	ganga
calypso	pratico <sup>b</sup>	black beauty	narval f1 <sup>b</sup>
caracoli <sup>b</sup>	roma vf	commodore <sup>b</sup>	stella f1
carioca <sup>b</sup>	samruthi	fond may	tibesti <sup>b</sup>
heat master <sup>b</sup>	sumo <sup>b</sup>	orma	yolo wonder
marmande	TW6 <sup>b</sup>		

Tableau 5 Variétés testées. b : variétés résistantes selon l'obteneur

#### i. L'incidence de la maladie expliquée statistiquement

Dans le cas de notre expérience, toutes les plantes flétries échantillonnées ont été colonisées par *R. solanacearum*. On considèrera donc que la totalité des plantes flétries sont colonisées d'où Rwp toujours égal à 1. La formule de calcul du taux de colonisation se simplifie alors en "nombre de plantes colonisées/nombre total de plantes".

Le script d'analyse statique et les données se trouvent en annexes 18 et 19.

On cherche à expliquer le taux de flétrissement et l'AUDPC par un effet dû aux différents types de souches inoculées et aux différentes variétés testées selon un modèle linéaire généralisé. La transformation des variables par leur racine carrée est suffisante pour vérifier les conditions d'homoscédasticité et de répartition aléatoire des résidus du modèle (évalués par le tracé graphique du modèle). Les variables précédentes sont quantitatives mais on peut aussi jauger l'agressivité des souches en tenant compte de l'état flétri ou non flétri (description binomiale) des plantes. On cherche à expliquer la fréquence du nombre de plantes vivantes ou mortes dans un modèle logistique à loi binomiale en fonction des variétés et des souches. En comparant les différents AIC des modèles faisant intervenir le taux de flétrissement, l'AUDPC ou le nombre de plantes flétries ou non, on constate que le modèle faisant intervenir le taux de flétrissement est le plus adapté (plus faible AIC) pour rendre compte des résultats du test.

Le modèle choisi indique que les variations observées dans les valeurs du taux de flétrissement est dû de manière significative aux trois types de souches inoculées (pvalue<0.01). Par contre, c'est le cas pour seulement 7 des 22 variétés testés (african beauty, ganga, narval, Roma, Stella TW6 et yolo wonder dont la pvalue<0.05).

Le taux de colonisation est également expliqué selon un modèle linéaire généralisé en fonction des variétés et des souches inoculées. On peut être statistiquement sûr (avec une

pvalue au moins inférieure à 5%) que les différences observées au niveau du taux de colonisation sont bien dû aux souches de phylotype II et phylotype II séquévar 4NPB. Par contre ce n'est pas le cas pour la souche I pour laquelle une grande partie de la variation du taux de colonisation reste inexpliquée par les variables prises en compte. En ce qui concerne l'effet du type de variété sur le taux de colonisation, il y a significativité pour 8 variétés : african beauty, marmande, narval, orma, stella, TW6 et yolo wonder.

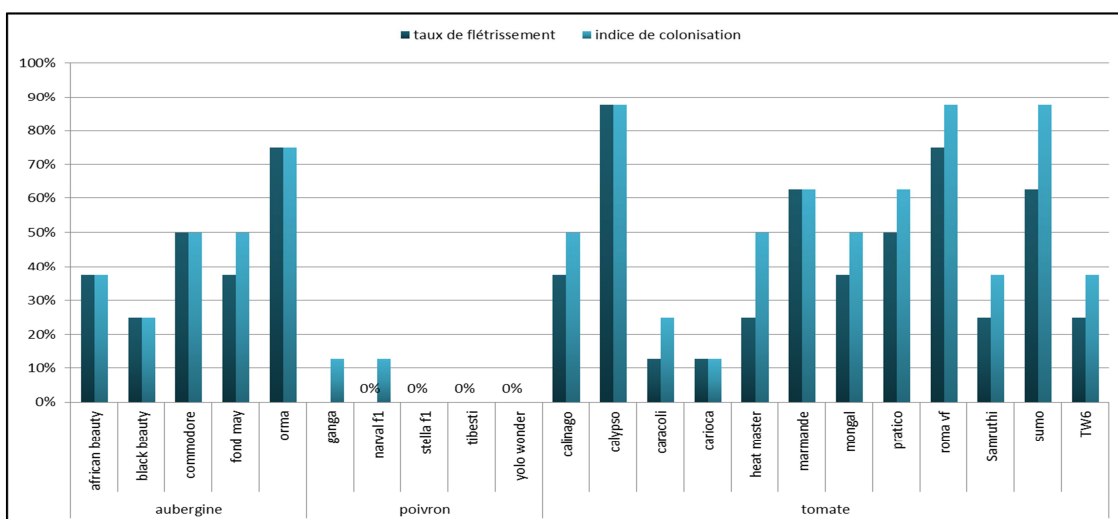
L'AUDPC rend compte de la cinétique d'apparition des symptômes. Une forte AUDPC peut signifier que les symptômes se sont déclarés tôt et/ou sur beaucoup de plants. C'est l'inverse pour les AUDPC faibles. Comme L'AUDPC et le taux de flétrissement suivent les mêmes tendances (voir annexe 20) et que le modèle incluant le taux de flétrissement est le plus pertinent statistiquement, il a été choisi de laisser de côté l'AUDPC pour la classification des interactions variété\*souche.

## ii. Comparaison des taux de flétrissement et de colonisation

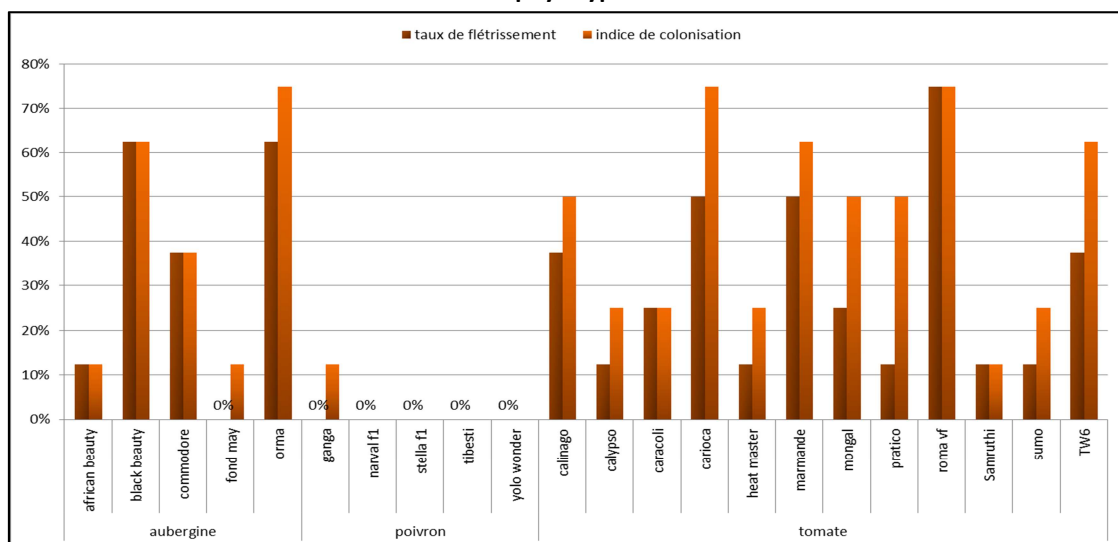
Le taux de colonisation et le taux de flétrissement sont présentés à la page suivante pour les différentes souches. En annexe 20 se trouve leurs valeurs chiffrées. Le taux de colonisation représente l'aptitude qu'a la plante de contenir *R. solanacearum* dans ses tissus sans déclencher la maladie. Il s'agit d'un mécanisme de défense.

On constate que pour les aubergines et les poivrons, le taux de flétrissement et de colonisation sont presque toujours égaux pour toutes les souches. Cela suggère que le mécanisme de résistance pour ces espèces se situe plutôt au niveau de processus bloquant l'entrée de la bactérie dans les tissus. Cependant, si la bactérie réussie à pénétrer dans la plante elle déclenche presque toujours les symptômes.

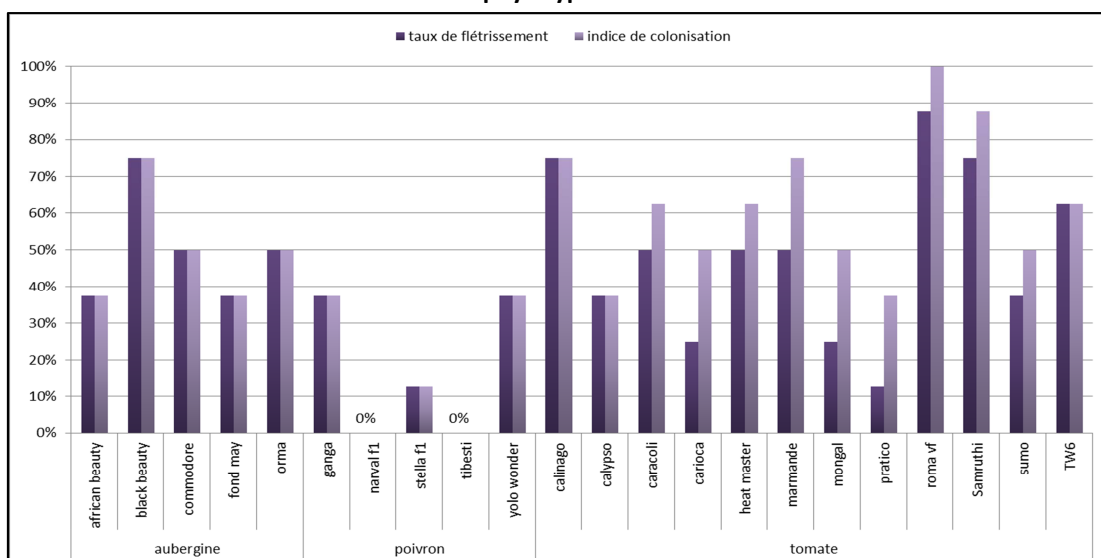
A l'inverse, les tomates ont une proportion importante de variétés présentant un taux de colonisation plus fort que le taux de flétrissement et beaucoup de plantes asymptomatiques sont infectées de manière latente. Les plantes résistent en empêchant la propagation des bactéries dans les tissus même si celle-ci a déjà pénétré.



**Figure 18 Taux de flétrissement (%) et de colonisation en fonction des différentes variétés pour la souche de phylotype I**



**Figure 19 Taux (%) de flétrissement et de colonisation en fonction des différentes variétés pour la souche phylotype II**



**Figure 20 Taux (%) de flétrissement et de colonisation en fonction des différentes variétés pour la souche de phylotypeII/séquévar4NPB**



### iii. Evaluation de la gamme de réponses des variétés envers les souches inoculées

Le nombre optimal de catégories différentes pour le classement des plantes est évalué à 3 après traitement statistique (cf. partie méthodologie). Quatre variétés de poivron présentent des taux de flétrissement et de colonisation strictement égale à 0. Il apparaît pertinent de les inclure dans un groupe distinct. Les 4 groupes ont les caractéristiques suivantes :

	Hautement Résistante (0)	Moyennement Résistante (1)	Très Sensible (2)	Hautement Sensible (3)
Moyenne du taux de flétrissement (TF)	0%	8%	33%	65%
Moyenne du taux de colonisation (TC)	0%	17%	44%	74%
bornes du taux de flétrissement	TF = 0%	0% < TF < 12,5%	12,5% < TF < 50%	50% < TF < 87,5%
bornes du taux de colonisation	TC = 0%	0% < TC < 25%	25% < TC < 62,5%	62,5% < TC < 100%

**Tableau 6 Les caractéristiques des groupes de résistances**

De manière générale, les variétés qui n'ont pas été sélectionnées pour leur résistance au flétrissement bactérien sont plus sensibles aux différentes souches inoculées (voir tableau 7). Parmi elles, Marmande qui est hautement sensible aux trois types de souches mais également Roma vf bien connue pour sa haute sensibilité au flétrissement bactérien. Dans 86% des cas l'interaction entre les pathogènes et les variétés donne des résistances partielles. Seules quatre variétés de poivrons montrent des résistances totales dans 14% des cas.

L'expérimentation confirme le fait que les souches de phylotypeII/séquévar4NPB sont en moyenne plus agressives que les autres séquévars. La souche de phylotypeII/séquévar4NPB de l'expérience totalise le plus grand nombre d'interactions variété\*souche classées en catégorie hautement sensible. Dans le même sens, les taux de flétrissement, de colonisation et l'AUDPC moyennés pour chaque espèce (annexe 20) sont toujours les plus forts pour la souche de phylotypeII/séquévar4NPB. Toutes les variétés sont en général plus (ou pareillement) sensibles à la souche de phylotypeII/séquévar4NPB sauf la variété Orma.

	Variétés	souche I	souche II	souche II/4NPB
aubergine	african beauty	2	1	2
	black beauty	2	3	3
	commodore <sup>b</sup>	2	2	2
	fond may	2	1	2
	Orma	3	3	2
poivron	Ganga	1	1	2
	narval f1 <sup>b</sup>	2	0	0
	stella f1	0	0	1
	tibesti <sup>b</sup>	0	0	0
	yolo wonder	0	0	2
tomate	calinago <sup>b</sup>	2	2	3
	Calypso	3	1	2
	caracoli <sup>b</sup>	1	2	3
	carioca <sup>b</sup>	1	3	2
	heat master <sup>b</sup>	2	1	3
	Marmande	3	3	3
	mongal <sup>b</sup>	2	2	2
	pratico <sup>b</sup>	1	2	2
	roma vf	3	3	3
	Samruthi	2	1	3
	sumo <sup>b</sup>	3	1	2
	TW6 <sup>b</sup>	2	2	3

**Tableau 7 Classement des variétés selon leur résistance aux souches inoculées**

Les poivrons sont plus résistants que la tomate et l'aubergine aux trois souches inoculées. Tibesti est l'unique variété testée qui présente des taux de colonisation et de flétrissement nuls pour les 3 souches. Le poivron ganga apparaît plus sensible que la référence sensible Yolo wonder. Dans une autre expérience de pathogénicité (Lebeau *et al*, 2010), Yolo wonder est apparu également moins sensible que prévu puisqu'il était susceptible à 5 souches sur 12 testées.

En ce qui concerne la tomate, Mongal et Pratico sont les 2 variétés totalisant les plus faibles taux de flétrissement et colonisation pour les 3 souches.

En aubergine, Fond May et African Beauty, pourtant non caractérisées comme variétés résistantes au flétrissement bactérien, ont un phénotype plus résistant que les autres aubergines.

#### iv. Limites et perspectives

L'expérience a été faite dans le but de choisir plusieurs variétés afin de les tester au champ. Il semble important de rappeler certaines limites inhérentes à l'expérience.

Les problèmes de germinations connus au début de la mise en place de l'expérience ont comme conséquence de limiter la puissance des tests statistiques effectués. En effet, il ne faut pas oublier que seules 8 répétitions sont effectuées par traitement (souche\*variété). Il est indispensable de répéter l'expérience une à deux fois pour confirmer les résultats. De même, suite à ce problème, les variétés Kalenda et Caraibe improved qui sont des références communes ne sont pas testées et on manque de ces référentiels habituels pour relativiser les résultats pour les tomates et aubergines.

Dans le cas où l'expérience serait réitérée, il serait souhaitable de la réaliser en conditions contrôlées afin de se libérer de toutes interférences avec les conditions météorologiques du moment.

L'expérience a voulu comparer la réponse de différentes variétés envers 3 souches de Guyane de phylotypes différents. Il s'agit d'un travail qui tente de confronter la diversité du

matériel génétique végétal à des souches prélevées en Guyane. A terme, si la distribution géographique des phylotypes et séquévars est bien caractérisée en Guyane (partie 6.b), cela pourrait permettre de choisir le matériel variétal possédant les caractéristiques de résistance les mieux adaptées localement.

Cependant, le travail de sélection des souches à tester mérite d'être approfondi. Il faudrait avoir un jeu de souches de Guyane dont on possède les caractéristiques de séquévar et d'importance afin de pouvoir constituer un échantillon représentatif des souches de *R. solanacearum* guyanaises à tester. Au moment de la mise en place de l'expérience on ne disposait pas de ces informations mais elles pourront être recueillies à partir du jeu de souches mis en collection pendant ce stage.

Les variétés désignées comme les plus résistantes peuvent être testées en plein champ. Cependant, il ne faut pas oublier qu'on ne considère que l'aspect résistance au flétrissement bactérien ici. Bien d'autres critères rentrent en compte dans le choix pertinent d'une variété. Le rendement, les caractéristiques du fruit (rédhibitoires pour le marché guyanais pour certaines variétés résistantes, par exemple pour la forme allongée ou la couleur claire des aubergines), la résistance aux stress abiotiques sont autant d'éléments à inclure dans le choix d'une variété pour un contexte particulier.

## d. Essai d'assainissement par la solarisation

L'expérience de solarisation a débuté le 15 Juin avec la pose des bâches plastiques sur le sol puis l'installation des sondes de températures et autres paramètres climatiques.

Le 5 Septembre, soit environ deux mois après la pose des plastiques, les sondes de températures ont été enlevées. Peu après, les bâches de solarisation sont enlevées. Les billons non recouverts sont traités à l'herbicide et leurs sols légèrement travaillés pour enlever les mauvaises herbes. Les aubergines sont également repiquées.

### i. L'effet du recouvrement plastique sur le sol et du fumier sur les températures du sol

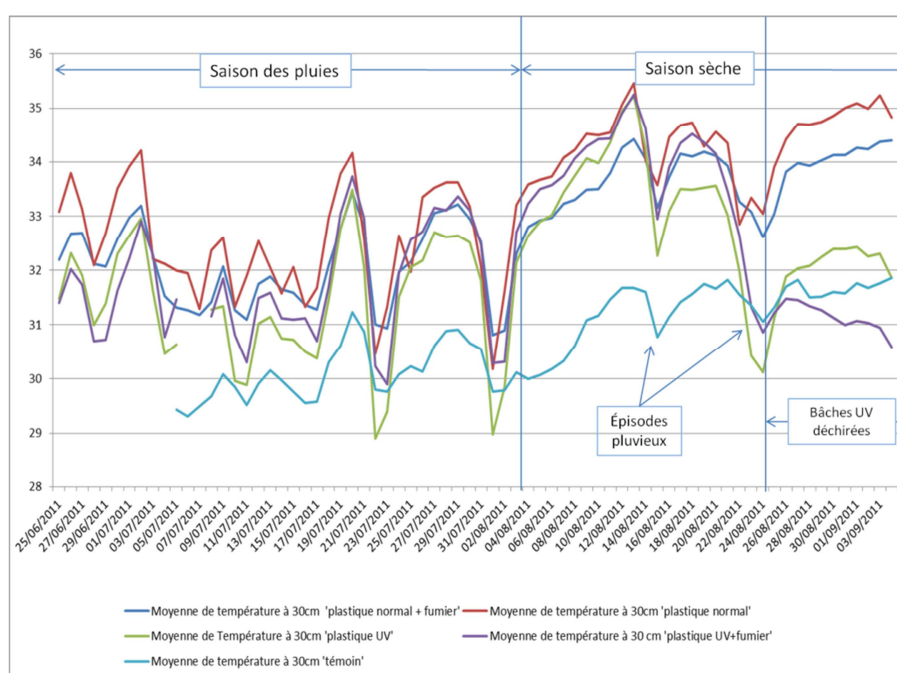
A 30cm de profondeur les températures enregistrées ne dépassent guère les 40°C. Sur la durée de bâchage et pour tous les traitements (sauf le témoin). Les moyennes journalières des températures des sols se situent entre 30 et 35,5°C.

Au vue des courbes de températures (figure 18), on peut considérer 3 phases dans la durée de l'expérience qui ont une influence non négligeable sur les valeurs observées des températures du sol:

- Dans un premier temps, les températures sont en moyenne journalière entre 30 et 34°C tous traitements confondus (sauf le témoin). Cette période correspond à la fin de la saison des pluies. Les fortes pluies, et faible ensoleillement n'autorisent pas une forte élévation de la température du sol.
- Au début du mois d'aout s'initie la saison sèche et les températures grimpent d'avantage (entre 32 et 35,5°C) même si on observe quelques creux de températures qui correspondent à des épisodes pluvieux.

- Enfin, on observe une chute des températures pour les traitements en bâche de solarisation anti-UV. Cela correspond en fait, au déchirement de bâche de solarisation en de nombreux endroits qui entraîne la perte de l'effet de réchauffement du sol. A l'inverse, les plastiques de serres sont restés intacts pendant toute la durée de la solarisation.

On observe une différence significative entre la température du billon témoin non recouvert et celle des billons bâchés. En moyenne, la différence des moyennes horaires de températures est de 1,5°C entre le billon 'plastique UV+fumier' et le billon témoin. La plus grande valeur de différence de température avec le billon témoin se trouve avec le billon 'plastique normal' à une valeur de 2,7°C. Cette dernière est encore plus grande (4°C) si on ne considère que les températures subies pendant la saison sèche.



**Figure 21 Moyenne journalière des températures des différents traitements**

Dans le cas du traitement plastique de serre (ou plastique normal), la modalité sans fumier a des températures plus élevées que celle avec fumier. C'est l'inverse pour le traitement avec plastique de solarisation anti-UV bien que les différences de températures soient moins marquées. On ne peut donc pas conclure à un effet significatif du fumier sur l'augmentation ou la diminution des températures du sol.

La série de températures les plus élevées se retrouve de manière inattendue pour le traitement avec plastique normal et sans fumier. Quotidiennement, les amplitudes de températures sont élevées (6°C) pour un minimum moyen horaire observé à 29°C et un maximum à 40°C. Pour les autres traitements, les amplitudes thermiques quotidiennes sont plus faibles (inférieur à 5°C) et les moyennes horaires des températures ne dépassent pas les 37°C.

## ii. Des températures assez élevées ?

	% d'heures dont la moyenne de température est	
	≥ à 35°C	≥ à 40°C
plastique normal + fumier	2%	0%
plastique normal	48%	1%
plastique anti-UV + fumier	14%	0%
Plastique anti-UV	13%	0%

**Tableau 8 Proportions de temps pour lesquelles le sol est chauffé à plus de 35 et 40°C**

Les températures du sol à 30 cm de profondeur, sont le plus souvent inférieures à 35°C (voir tableau 8). Il n'y a que pour le traitement plastique normal qu'elles atteignent 35°C près de la moitié du temps et 40°C seulement durant quelques heures. La température idéale de multiplication des souches

chaudes de *R. solanacearum* se situe aux alentours de 35°C. De plus, dans la

littérature, les températures qui ont prouvé leur effet létal sur *R. solanacearum* dans le sol sont au-delà de 40°C (Schönfeld *et al.*, 2003) (Zanón *et al.*, 2011) (Hayward, 1991). L'efficacité du traitement de solarisation sera peut-être nulle voire aura favorisé le développement de la bactérie.

Cependant cela reste à vérifier au travers de l'incidence de la maladie sur les aubergines récemment plantées. En effet, les températures subies dans les 30 premiers centimètres du sol sont peut-être suffisantes pour avoir un effet létal sur la bactérie. Des sondes de températures placées à 5cm de la surface du sol sous les plastiques, indiquent que sous la bâche anti UV et normale, les températures sont en moyenne plus élevées de 8°C et 7°C qu'à 30cm de profondeur et les maximums observés sont de 54°C et 47,5°C respectivement (voir annexe 21).

Le fort gradient de températures observées dans les 30 premiers centimètres du sol est sans doute dû au manque d'humidité du sol. En effet, pour des contraintes pratiques les billons n'ont pu être arrosés en cours de solarisation. Bien que le sol ait été gorgé d'eau à la pose des bâches, sa nature très sableuse a fait que l'eau n'a pas été retenue longtemps. Des sondes de teneurs volumiques en eau indiquent que, selon les billons, la teneur en eau va seulement de 90 à 160L par mètre cube de sol. L'humidité du sol paraît insuffisante pour assurer la bonne conduction de la chaleur jusque dans les couches profondes du sol.

Le déchirement de la bâche de solarisation est un biais important dans l'expérience à relativiser par le fait que le déchirement soit intervenu en fin d'expérience et qu'il n'y a pas eu de gros épisodes pluvieux entre le moment de déchirement et celui du repiquage. Plusieurs causes à cela ont été observées :

- Le tuyaux d'irrigation noir situé sous les bâches d'irrigation a dû chauffer et a entraîné la fonte du plastique situé au-dessus
- A la fin de l'expérience, le revêtement anti UV a commencé à s'effriter et cela a fragilisé la bâche
- La bâche a été posée sur des billons voutés (voir photos en annexe 21) et cela ne correspond peut-être pas au type de tension qu'elle peut supporter.
- Enfin, la mauvaise conduction de la chaleur vers les couches profondes du sol a peut-être favorisé l'échauffement à la surface à des températures non tolérées par le plastique anti UV.

L'essai de solarisation se poursuit actuellement. L'incidence du flétrissement est relevée régulièrement.

Les données seront traitées afin de savoir si les moyennes d'incidence par traitement sont significativement différentes et permettra d'identifier le traitement conduisant à la plus faible incidence.



## 7. Conclusion

Cette étude est la première étude d'envergure sur la caractérisation génétique des souches de l'agent *R. solanacearum* en Guyane. Elle a permis de constituer une première collection importante de la bactérie. Grâce au phylotypage des souches on sait maintenant que le séquévar émergent très agressif est bien implanté en Guyane. L'étude a renseigné également sur la distribution géographique des autres phylotypes et a confirmé l'impact des précédents culturels sur la nature génétique de la population de l'agent *R. solanacearum*. Les perspectives de l'étude sont nombreuses : un test de pathogénicité des souches représentatives pourrait permettre d'avoir plus d'information sur la virulence et l'agressivité des souches. En outre, le séquençage des souches fournirait des informations sur les liens de parenté avec les autres souches de l'agent *R. solanacearum* collectées dans le monde.

Dans le souci d'apporter des solutions de lutte aux agriculteurs une expérience de criblage variétale a été initiée comme préalable à de futures expériences de plein champ. L'objectif était de comparer la réaction de différentes variétés face à différents phylotypes retrouvés en Guyane. On peut conclure que certaines variétés sont plus résistantes que d'autres. Cependant, des contraintes pratiques ont perturbé le déroulement de l'expérience et il est impératif de la répéter pour confirmer les résultats.

Toujours dans le "volet solution" un essai de solarisation du sol a été mené. Il montre notamment, dans les conditions de l'essai, que le fumier n'a pas un effet net sur l'augmentation des températures. Il montre aussi que l'utilisation d'un plastique basique permet de faire plus monter les températures qu'un plastique traité anti-uv plus cher. La mise en place de l'essai a permis de dégager des éléments pratiques nécessaires au bon déroulement de la solarisation. Cela permettra d'améliorer la future mise en place d'autres essais en cours de solarisation en les communiquant aux agriculteurs concernés. L'expérience est toujours en cours avec la phase de monitoring de l'incidence de la maladie sur les aubergines. Le suivi de l'essai sera assuré par le lycée de Matiti ou la FREDON.

Enfin, les enquêtes sur le terrain ont permis de constituer une base de données décrivant globalement le fonctionnement d'une trentaine d'exploitations cultivant des aubergines, tomates et ou poivrons. La caractérisation de leurs itinéraires techniques selon un jeu de variables a permis de les répartir dans cinq groupes reflétant le degré de danger qu'ils comportent face à la contamination par le flétrissement bactérien. 44% des itinéraires techniques de l'échantillon sont classés dans les 2 groupes les plus risqués. La typologie pâtit du manque de données sur la caractérisation du milieu qui pourrait renseigner sur l'importance des inoculums présents (eau contaminée, pH du sol ...) et sur l'effet de l'interaction entre les pratiques et le milieu environnemental (pluviométrie locale, sécheresse ...) sur l'incidence du flétrissement bactérien.

Cette étude est l'une des nombreuses qui participent à la connaissance du terrain dans le but de faciliter la mise en place imminente du plan écophyto en Guyane. Elle n'a été possible que grâce à l'implication de plusieurs acteurs du développement et de la recherche en Guyane.

## 8. Bibliographie

- Álvarez, B., Biosca, E., & López, M. (2010). On the life of *Ralstonia solanacearum*, a destructive bacterial plant. *current research, on tech. and educ. tropics*.
- Armeñilhor\_Réunion. (2007). Lutte préventive contre le flétrissement bactérien en culture de tomate hors sol, état des connaissances et conseils.
- Arthy, J., Akiew, E., Kirkegaard, J., & Trevorrow, P. (2005). Using Brassica spp. as Biofumigants to Reduce the Population of *Ralstonia solanacearum*. *Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex*.
- Blancard, D. (2009). *Ralstonia solanacearum*. Dans D. Blancard, *Les maladies de la tomate: Identifier, connaître, maîtriser* (pp. 550-553). Editions Quae.
- Buddenhagen, I., (1964). biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *pseudomonas solanacearum*. *annu. Rev. phytopatol.*, 2:203-230.
- Buddenhagen, I., Sequeira, L., & Kelman, A. (1962). designation of races in *pseudomonas solanacearum*. *phytopatology*, 726.
- Cellier, C., & Prior, P. (2010). Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. *phytopathology*, 100,11:1250-1261.
- Cook, D., & Sequeira, L. (1994). Strain differentiation of *Pseudomonas solanacearum* by molecular genetic methods. *bacterial wilt: the disease and its causative agent, pseudomonas solanacearum*, 77-93.
- Coutinho, & Teresa, A. (2005). Introduction and prospectus on the survival of *R. solanacearum*. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*, pp. 29-38.
- Deberdt, P., Queneherveb, P., Darrasse, A., & Prior, P. (1999). Increased susceptibility to bacterial wilt in tomatoes by nematode galling and the role of the Mi gene in resistance to nematodes and bacterial wilt. *Plant Pathology*, 48,408-414.
- Digat, B. (1967). Survey of bacterial wilt of solanaceous crops in French West Indies and in French Guyana. *INRA: Petit-Bourg, Guadeloupe (FWI)*, p 19.
- Elphinstore, J. (2005). the current bacterial wilt situation: a global overview. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*, pp. 9-28.
- Fegan, M., & Prior, P. (2005). How complex is the *ralstonia solanacearum* species complex. *Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia Solanacearum Species Complex*, 449-461.
- French, E., & Sequeira, L. (1968). Bacterial wilt or moko of plantain in Peru. *Fitopatologia*, 3, 27-38.
- Gely, A. (1983). *la polyculture vivrière en Guyane française*. thèse, toulouse, université Paul Sabatier.
- Godon, P., & Guillobez, S. (1984). zonage agroclimatique de la guyane. *la météorologie*, 5:37-40.
- Gorissen, K., Van Overbeek, L., & Van Elsas, J. (2004). pig slurry reduces the survival of *ralstonia solanacearum* biovar 2 in soil. *Can. J. Microbiology*, 50:587-593.
- Graham, J., & Lloyd, A. B. (1979). survival of potato strain (race 3) of *pseudomonas solanacearum* in the deeper soilayers. *Aust. J. Agric. Res.*, 30:489-496.
- Hayward, A. (1991). Biology and Epidemiology of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas Solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, pp. Vol. 29: 65-87.

- Hayward, A. (1995). systematic and phylogeny of *pseudomonas solanacearum* and related bacteria. *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, pseudomonas solanacearum*, p. 123-135.
- He, L., Sequeira, L., & Kelman, A. (1983). characteristics of strains of *pseudomonas solanacearum* from china. *plant disease*, 67:1357-1361.
- Lebeau, A., daunay, M.-C., Frary, A., Palloix, A., Wang, J.-F., Dintinger, J., et al. (2011). Bacterial wilt resistance in tomato, pepper and eggplant: genetic ressources respond to diverse strains in the *ralstonia solanacearum* species complex. *phytopathology*, 101:154-165.
- Leclerc, A. (1987). *Quelques exploitations en Guyane Française, contribution à l'étude des possibilités agronomiques de la région*.
- Mahbou Somo Toukam, G., Cellier, G., Wicker, E., Guilbaud, C., Kahane, R., Allen, C., et al. (2009). Broad diversity of *ralstonia solanacearum* strains in Cameroon. *Plant disease*, 93:1123-1130.
- Marins, O., Nabizadeh-Ardekani, F., & Rudolph, K. (2005). Seeds from infected plants appear to be free fom contamination by *ralstonia solanacearum* when tested by PCR or microbiological assays. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*, pp. 95-101.
- ODEADOM. (2009). Programme Sectoriel Fruits et Légumes 2008-2013.
- Pegg, K., & Moffett, M. (1971). Host range of the ginger strain of *psseudomonas solanacearum* in Queensland. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb*, 11:696-698.
- Poussier, S. (2000). *Exploration de la diversité génétique de Ralstonia solanacearum, agent du flétrissement bactérien. Détection et dynamique des populations dans les réservoirs d'inoculum*. université de rennes 1.
- Poussier, S., Trigalet-Demery, D., Vandewalle, P., Goffinet, B., Luisetti, J., & Trigalet, A. (2000). Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* as assessed by PCR-RFLP on the *hrp* gene region, AFLP and 16S r RNA sequence analysis, and identification of an African subdivision. *microbiology*, 146:1679-1692.
- Prior, P., Bérarnis, M., Chillet, M., & Schmit, J. (1989). mise au point sur la lutte intégrée contre le flétrissement bactérien dû à *pseudomonas solanacearum* E.F Smith aux Antilles française.
- Prior, P., poussier, S., Luisetti, j., hayward, C., & Fegan, M. (2000). Partial sequencing of the *hrpB* and endoglucanase genes confirms and expands the kwon diversity within the *relstonia solanacearum* species complex. *systematic and applied microbiology*.
- Saddler, G. (2005). management of bacterial wilt disease. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*, pp. 121-132.
- Sanchez Perez, A., Mejia, L., Fegan, M., & Allen, C. (2008). Diversity and distribution of *Ralstonia solanacearum* strains in Guatemala and rare occurrence of tomato fruit infection. *Plant Pathology*, 57(Issue 2, pages 320–331).
- Schönfeld, J., Gelsomino, A. S., Van Overbeek, L., Gorissen, K., Smalla, D., & Van Elsas, J. (2003). Effects of compost addition and simulated solarisation on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. *FEMS microbiology ecology*, vol. 43, no1, pp. 63-74.

- Shekhawat, G., & Gadewar, A. (1987). Cultural practices for managing bacterial wilt of potatoes. *bacterial disease of the potato, report on the planning conference on bacterial disease of the potato*, p.61-65.
- Techawongsitien, S., Thummabenjapone, P., & Bolkan, H. (2009). Screening tomato varieties for their bacterial wilt resistance over season in the northeast thailand. *Proceedings on the second international symposium on tomato diseases*, pp.263-267.
- Thuries, L. (2000). influence d'une fertilisation organique et de la solarisation sur la productivité maraichère et la propriété d'un sol sablux sous abri. *Etude et gestion des sols*, 7:37:88.
- Vincent, V., Michel, T., & Mew, T. (1998). effect of a soil amendment on the survival of *ralstonia solanacearum* in different soils. *phytopathology*, vol. 88, no4, pp. 300-305.
- Wang, J., Chen, J., & Li, H. (1998). Resistance sources to bacterial wilt in eggplant (*solanum melongena*). *bacterial wilt disease: molecular and ecological aspect*, 284-289.
- Wang, J., Hanson, P., & Barnes, J. (1998). worldwild evaluation of an international set of resistance sources to bacterial wilt in tomato. *bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects*, 269-275.
- Wicker, E., Coranson-Beaudu, R., Cadasse, S., & William, M.-A. (2009). Emerging strains of *Ralstonia solanacearum* in the French West Indies raise new challenges to tomato breeders. *IInd Intl. Symposium on tomato diseases*.
- Wicker, E., Grassart, L., Coranson-Beaudu, R., & Milan, D. P. (2009). Epidemiological evidence for the emerggence of a new pathogenic variant of *ralstonia solanacearum* in Martinique (French West Indies). *plant pathology*, 58, 853-861.
- Wicker, E., Grassart, L., Coranson-beaudu, R., Mian, D., Guilbaud, C., Fegan, M., *et al.* (2007). *Ralstonia solanacearum* strains from martinique (french west indies) exhibiting a new pathogenesis potential. *applied and environmental microbiology*, p. 6790-6801.
- Yadessa, G., Van Bruggen, A., & Ocho, F. (2010). Effects of different soil amendments on bacterial wilt caused by *ralstonia solanacearum* and on the yield of tomato. *journal of plant pathology*, 92 (2), 439-450.
- Zanón, M., Font, M., & Jordá, C. (2011). Use of tomato crop residues into soil for control of bacterial wilt caused by *ralstonia solanacearum*. *crop protection*, 30 (1138-1143).
- Zehr, E. (1969). Studies of the distribution and economic importance of *pseudomonas solanacearum* in E.F. Smith in certain crops in the Philipines. *Philipp. Agric.*, 53:218--23.

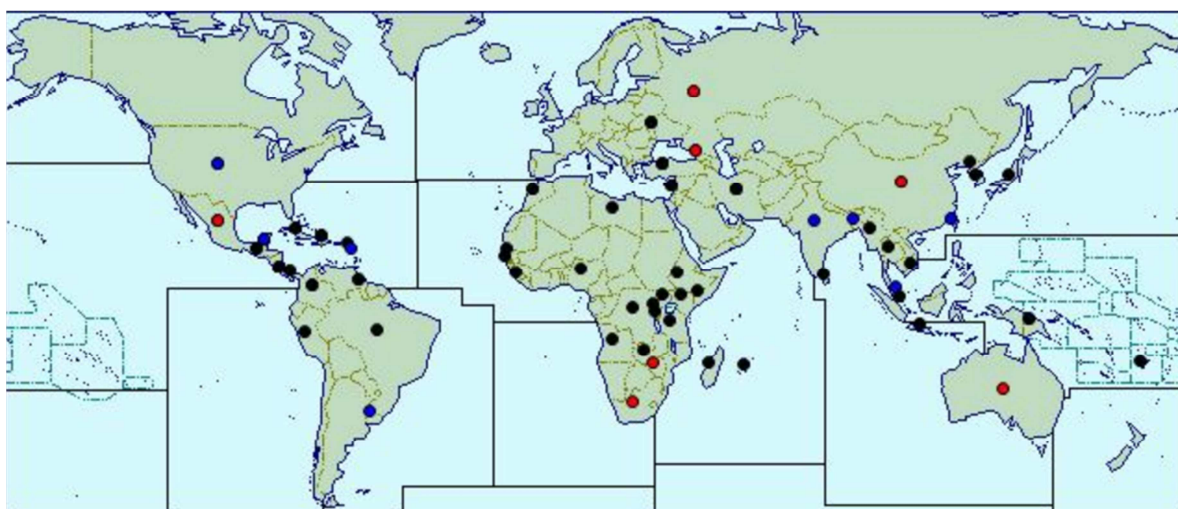
## 9. Annexes

I.	DISTRIBUTION DE <i>R. SOLANACEARUM</i> DANS LE MONDE.....	65
II.	LES DIFFERENTS TYPES DE SOLS EN GUYANE .....	67
III.	ZONAGE AGROCLIMATIQUE .....	68
IV.	QUESTIONNAIRE D'ENQUETE .....	69
V.	FICHE DE SYNTHESE .....	74
VI.	SYNTHESE DES ITK PAR EXPLOITATION .....	75
VII.	PROTOCOLE D'ISOLEMENT DE <i>R. SOLANACEARUM</i> A PARTIR D'UN ECHANTILLON DE PLANTE 76	
VIII.	PROTOCOLE DE CONSERVATION DES SOUCHES DE L'AGENT <i>R. SOLANACEARUM</i> A TEMPERATURE AMBIANTE .....	77
IX.	MILIEUX DE CULTURE POUR L'AGENT L'AGENT <i>R. SOLANACEARUM</i> .....	78
X.	PREPARATION D'UN INOCULUM TITRE.....	80
XI.	PHYLOTYPAGE DE L'AGENT <i>R. SOLANACEARUM</i> .....	82
XII.	MODALITE DES VARIABLES DE LA TYPOLOGIE .....	86
XIII.	TABLEAU DES DONNEES DE LA TYPOLOGIE .....	87
XIV.	SCRIPT DE L'ANALYSE STATISTIQUE DE TYPOLOGIE.....	88
XV.	RESULTATS DE LA MIGRATION SUR GEL .....	89
XVI.	DONNEES DU PHYLOTYPAGE .....	90
XVII.	SCRIPT D'ANALYSE DES DONNEES DU PHYLOTYPAGE .....	93
XVIII.	DONNEES STATISTIQUES DE L'EXPERIENCE DE CRIBLAGE .....	94
XIX.	SCRIPT D'ANALYSE DES DONNEES DE L'EXPERIENCE DE CRIBLAGE .....	96
XX.	AUDPC, TAUX DE COLONISATION ET TAUX DE FLETRISSEMENT .....	97
XXI.	TEMPERATURES DU SOL LORS DE L'EXPERIENCE DE SOLARISATION .....	99

## I. Distribution de *R. solanacearum* dans le monde

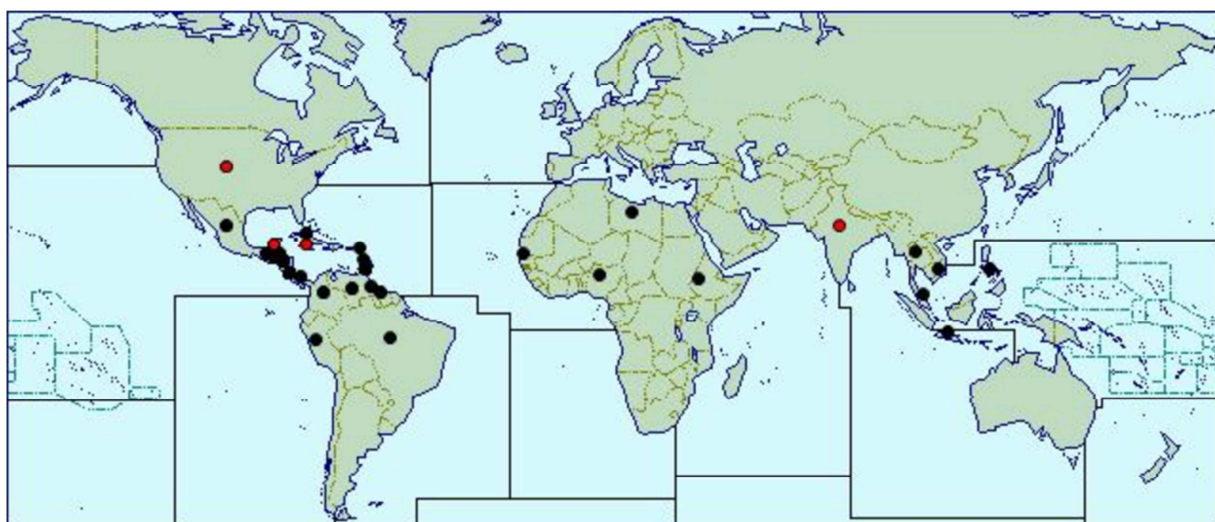
(CAB international 2011)

### Race 1



● = Present, no further details    ● = Widespread    ● = Localised  
● = Confined and subject to quarantine    ● = Occasional or few reports  
● = See regional map for distribution within the country

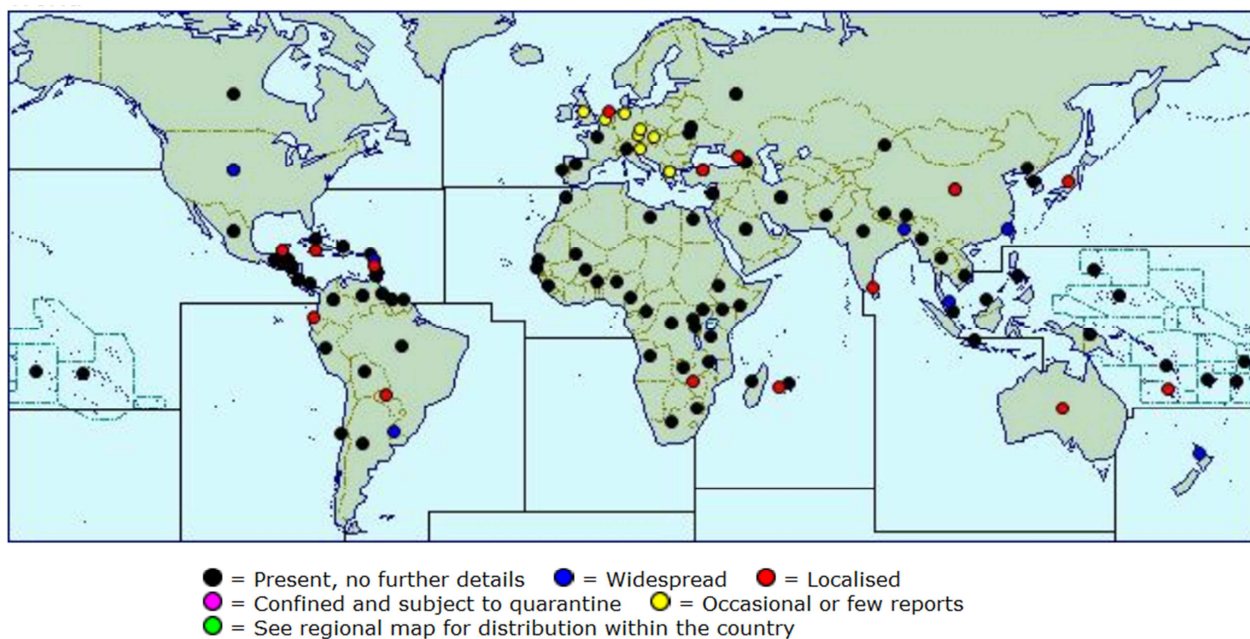
### Race 2



● = Present, no further details    ● = Widespread    ● = Localised  
● = Confined and subject to quarantine    ● = Occasional or few reports  
● = See regional map for distribution within the country

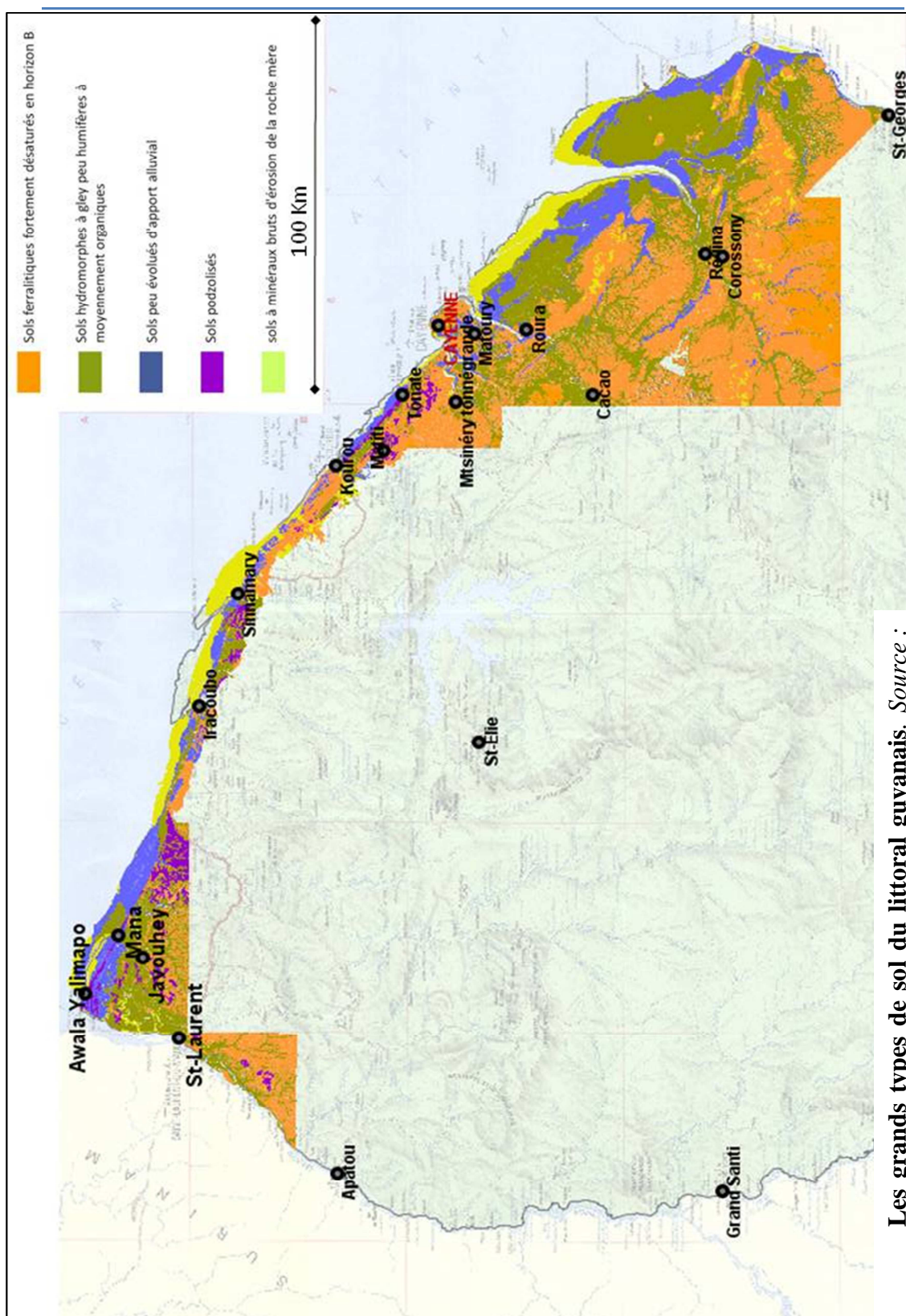


## Race 3



Note : le moko et la race 1 sont aussi présentes en Guyane (source : DAAF de Guyane)

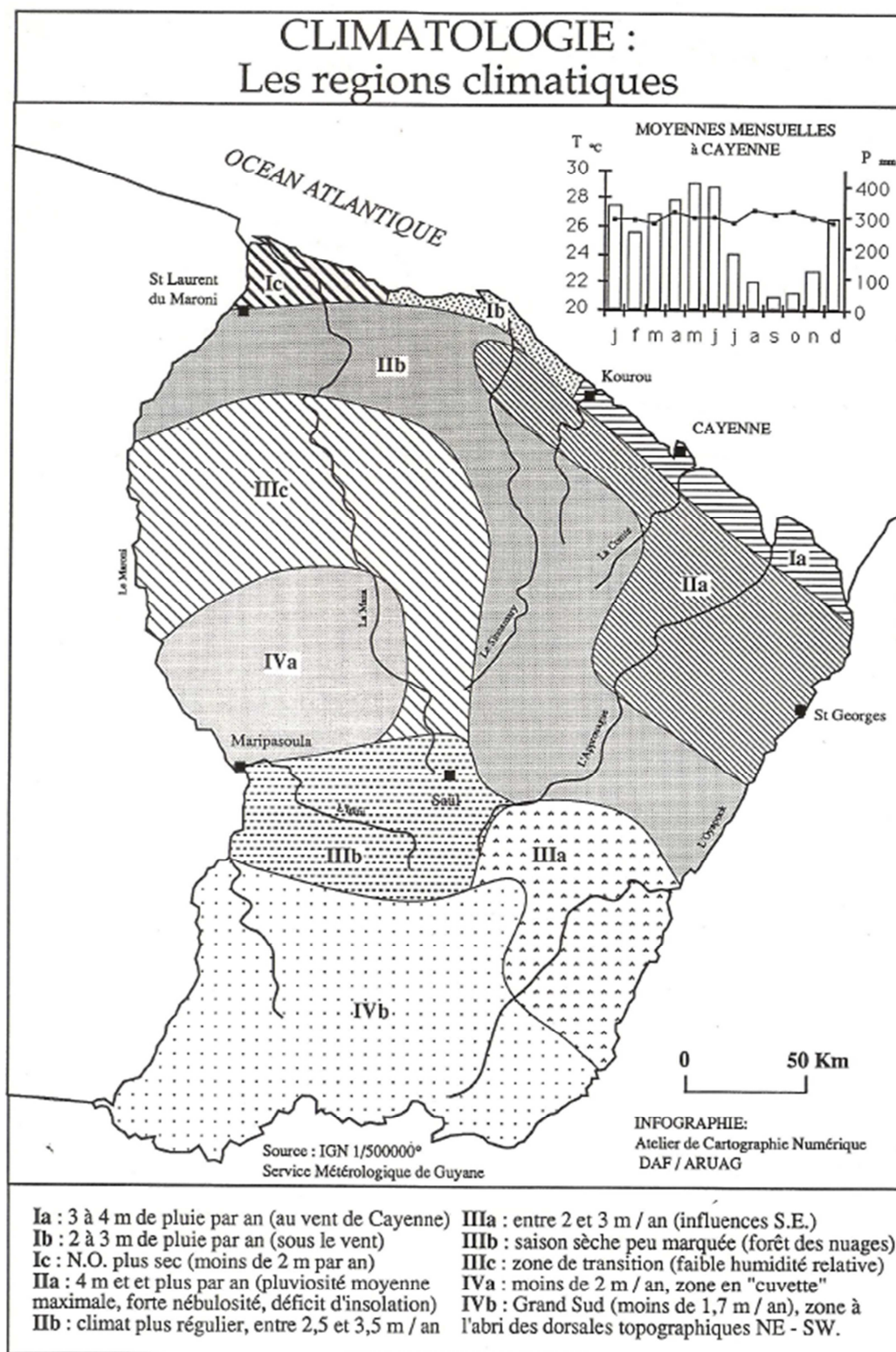
## II. Les différents types de sols en Guyane



Les grands types de sol du littoral guyanais. Source :

ASD

### III. Zonage agroclimatique



**Zonage agroclimatique de la Guyane.** Source : P. Godon, S. Guillobez, 1984. Cartographie numérique en Guyane DAAF



## IV. Questionnaire d'enquête

### Questionnaire d'enquête semi-directive

Date :

Zone :

#### Identification de l'exploitation et de l'exploitant

Commune :

Point GPS de l'entrée de l'exploitation

Nom, prénom du producteur

Etes-vous pluriactif ?

#### Description générale de l'exploitation,

Forme juridique de l'exploitation

SAU totale de l'exploitation

SAU cultivée

Altitude

Type de sol prépondérant (pierrosité, texture, pH) :

Pente (nulle, légère, forte) :

Situation du parcellaire (un seul tenant ou à différents endroits ?) :

Existe-t-il une production animale sur l'exploitation ? Si oui, quel type et quelle importance ?

Quelles sont les grands types de productions végétales (céréales, maraichage, arboriculture, plante ornementales) ?

#### Bref historique de l'exploitation

Début activité en tant qu'agriculteur

Début activité sur l'exploitation actuelle

Quelles ont été les grands changements (surfaces et espèces) au cours des 5 dernières dans l'exploitation ? Pourquoi ?

#### Historique de culture des TAP et de la maladie du flétrissement bactérien (FB)

Quand avez-vous commencé à cultiver la tomate, l'aubergine ou le poivron ?

A quel moment au cours de l'histoire de l'exploitation avez-vous eu les premiers symptômes de FB ?

Etait-ce localisé ou généralisé à toutes les parcelles ?

Quels sont les changements de variétés que vous avez effectués ces dernières années ?

Avez-vous remarqué qu'une variété/espèce soit plus résistante qu'une autre ?

Avez-vous noté l'apparition de la maladie à un stade préférentielle de croissance des TAP ?

### **Système de production végétale**

Assolement (surface occupée/Espèce cultivée) au moment de la visite

Photos des parcelles

Quels sont les principaux problèmes que vous rencontrez dans la gestion des productions maraichères de votre exploitation ? Et sur solanacées en particulier? Le FB est-il un problème majeur pour vous ?

Quels sont vos projets en termes de changement dans le système de production végétale ?

#### **Importance des TAP dans le système de production:**

Quelle est la culture principale de l'exploitation (en volume ou CA) ?

En moyenne, quelle surface cultivez-vous de TAP par an ?

Les cultures sont-elles présentes en continue sur le terrain ? Sinon à quelle fréquence sont-elles cultivées ?

A quelle période de l'année sont-elles cultivées? Pourquoi (stratégie d'évitement ?)?

### **Le contexte socio-économique**

#### **Matériels et bâtiments agricoles**

De combien d'abris disposez-vous?

Quelle surface ?

Que cultivez-vous sous les abris ?

Quel système d'irrigation (aspersion et/ou goutte à goutte et/ou inexistant) ? Sur tout ou partie de l'exploitation ?

Que possédez-vous comme matériel ? (motoculteur, pulvérisateur, tracteur...) ?

Quels sont vos projets d'acquisition ?

#### **Main d'œuvre**

Employez/faitez-vous appeler à de la main d'œuvre extérieur ?

Dans quelle mesure les membres de la famille vous aident (femme et enfant) ?

La main d'œuvre est-elle un frein à la culture de TAP ? Pourquoi ?

#### **Encadrement technique**

Faites-vous partie d'une association, coopérative agricole ?

Avez-vous des contacts avec des conseillers techniques (de la CA ou autre) ?

Avez-vous une formation agricole ?

Faites-vous partie d'une CUMA ?

### **Ventes et débouchés**

Quel est votre mode de vente ? (Vente/livraison assuré par l'agriculteur ou Vente par l'intermédiaire d'une coopérative, grossiste ...)

Qui sont vos clients ?

Combien de fois/semaine allez-vous au marché (si c'est le cas) ?

Par rapport à vos dépenses est-ce que la vente de TAP vous rapporte assez ?

### **Itinéraire technique**

#### **Partie à décliner pour la/les cultures d'aubergine, poivron ou tomate.**

### **Identification des parcelles**

*Type de culture* : (en plein champs, sous abris en pleine terre ou sous abris hors sol)

Nombre de parcelle de tomate :

Surface :

Localisation (bas de pente, pente ...)

Type de sol

Date de plantation

Conduite analogue des différentes parcelles ou non ?

Choisir l'une des parcelles pour détailler l'ITK (de préférence la parcelle où est fait l'échantillonnage de l'agent *R. solanacearum*)

### **Parcelle étudiée :**

Equipement (abris, irrigation, drainage)

Type de sol

Combien de mois dans l'année le terrain est-il inondé ?

Le sol est-il compacté ?

Quel est l'état d'enherbement dans et autour de la parcelle (faible, important) ?

Présence ou non de nématodes ?

Evaluer l'incidence du FB pour la culture (<25%, <50%, >50%).

Quand sont-apparus les symptômes de FB sur la culture ?

Quelles sont les autres maladies visibles ou ravageurs présents ?

### **Gestion du précédent cultural**

Historique des 2-3 dernières cultures sur la parcelle et culture suivante prévue :

Gestion des résidus culturels (arrachage, coupés, brûlés ...) :



La culture est-elle arrachée tout de suite après la fin de récolte ? En particulier dans le cas d'une solanacée infectée par le FB ?

Désherbage (chimique, débroussailluse) :

### **Préparation du sol**

Herbicide ?

Quel type de travail du sol (aucun, labour, covercrop, etc.) à quel profondeur ?

Quel type d'amendement/chaulage est apporté ? De quelle manière (localisé à l'endroit du futur plant ou sur toute la surface) ? A quelle dose ?

Billonnage : permanent ou refait en début de culture ? Quelle hauteur de billons (pour le drainage) ?

Utilisez-vous un paillage naturel ou plastique ?

### **Obtention des plants**

Semez-vous directement ou repiquez-vous ?

Quand a été repiqué/semé la culture en place ?

Quel type de semences utilisez-vous (certifiées, multipliées par lui)

Quelles variétés utilisées (en général et cette année) ?

Si repiquage : combien de temps les plants restent-ils en "pépinière" ? Dans quel type de substrat est fait le semis et où (à même le sol, vrai pépinière, terreau ...) ?

### **Plantation**

Quelle densité moyenne ?

A quelle période de l'année ? Et Pourquoi (évitement des maladies ?) ?

### **Traitements sur la culture**

Engrais (méthode d'épandage des engrais, type, dose, fréquence)

Reprendre chronologiquement les traitements faits sur la culture (nom du produit, dose, fréquence) :

Pour quel type de nuisible utilisez-vous ce pesticide ?

Traitez-vous le sol pour l'assainir ? Avec quel produit ?

Effectuez-vous une taille ? Comment et à quelle fréquence ?

Effectuez-vous un tuteurage ?

Quelle est la conduite en cas de plant atteint du FB ? (pas d'action, arrachage plus ou moins rapide) ?

### **Gestion des besoins en eau**

Type d'apport (eau ou solution nutritive, rien) ?

Quelle fréquence d'apport ?

Origine de l'eau (forage, crique, bassin) ?

Assainissez-vous l'eau d'arrosage ?

Le sol est-il drainé ?

### **Récolte**

Combien de temps après le semis pouvez-vous effectuer la première récolte ?

En général combien de temps dure un cycle de culture ?

Combien de fois/semaine récoltez-vous ?

Quels sont les rendements pour cette année et en générale ?

En général combien de semaines de récolte pouvez-vous effectuer sur la culture quand elle est atteinte ou non par le FB ?

En général au bout d'un cycle de culture, perdez-vous la totalité des plants par flétrissement, la moitié ou moins ?

Malgré le FB arrivez-vous à avoir des récoltes ?

### **Post-Récolte**

Gestion des résidus

Suite culturale

### **Supplément pour les cultures en hors sol**

Décrire le système utilisé : type d'abris, revêtement au sol (plastique, ciment), type de substrat.

Le substrat et l'eau sont-ils assainis ? A quelle fréquence ?

Faites-vous un vide sanitaire dans les serres ? Stérilisez-vous le matériel utilisé ?

Caractériser le réseau de drainage des eaux en particulier la position des racines par rapport à l'eau de drainage.

### **Stratégies de lutte de l'agriculteur non abordées précédemment**

L'agriculteur utilise-t-il des méthodes de prophylaxies ? (stérilisation, pédiluve ...)

Y a-t-il des rotations régulières entre les cultures ? Quelle est la rotation type ?

Comment organisez-vous les rotations ? (rotation au niveau de l'espèce ou de la famille)

Pratiquez-vous le bouturage ? Sur quelles espèces ? A quelle fréquence ?

Pratiquez-vous la solarisation du sol ?

## V. Fiche de synthèse

FICHE DE SYNTHÈSE			
EXPLOITATION N° 2, ZONE N° 3, COMMUNE <b>Cacao</b>			
DATE: <b>28.04.2011</b>			
<b>LA FAMILLE</b> (la composition): 1 femme qui l'aide au champ Parents agriculteurs retraités	<b>L'HISTOIRE</b> (étapes essentielles): • Exploitation possédée par les parents depuis + de 30 ans • Reprise par le fils il y a 6 ans mais le terrain est toujours la propriété de ses grands-parents. • Implantation récente d'abris métalliques fonctionnels depuis 10 mois		
<b>OBJECTIFS:</b> • Rentabiliser l'utilisation des abris. • Améliorer les rendements des produits maraîchers	• Essai de nouveaux ITR (ex. greffage) pour augmenter la production • Production à contre-saison pour augmenter prix de vente		
• Adaptation des ITR à la culture sous abris • Nouvelles possibilités en termes de diversification des espèces cultivables		• Nouvelle production cette année sous serre: la tomate. • Possibilité de planter des cultures fragiles toute l'année.	
<b>SAU (ha): 2,6</b>		<b>COMBINAISON DES PRODUCTIONS</b>	
1. maraîchage: tomate, poivron, herbes aromatiques et melon sous serres, cucurbitacées, brassicacées et laitues en plein champ. 2. arboriculture: peu important quelques mandariniers et arbres à ramboutans.		<b>UGB: 0</b>	
• Capacité d'investissement dans du capital (serre, réseau d'irrigation)		• libéré de cette contrainte grâce au serre. • En plein champ, creuse des tranchées profondes pour permettre le drainage. Culture en plein champ surtout en saison sèche	
• Choix de cultiver une petite surface pour ne pas être dépassé par le travail à faire.		• Choix de cultiver une petite surface pour ne pas être dépassé par le travail à faire.	
<b>ENVIRONNEMENT</b> socio-économique	<b>MILIEU PHYSIQUE</b> climat / terrains	<b>MAIN D'ŒUVRE</b>	<b>ÉQUIPEMENTS</b> BATIMENTS
Jeune agriculteur installé récemment et formé au domaine agricole. ↳ Subventions possibles (DJA)	Sol à tendance à être inondé et impraticable car terrain très argileux	à plein temps sur l'exploitation aide de son épouse en dehors de ses heures de travail	05 abris de 270m² • aménagement d'une pépinière • irrigation au goutte à goutte présent sous toutes les serres maraîchères

## VI. Synthèse des ITK par exploitation

Parcelle étudiée		Peuplement végétal étudié	
Zone agroclimatique 3	Age de la culture au moment du passage 3 mois.	Type de Sdc Sous abris	Type de Sdc Sous abris
Altitude 24 m	Type de sol limono-argileux	Fréquence plantation 2 à 3 fois dans l'année.	Fréquence plantation 2 à 3 fois dans l'année.
Pente nulle	Etat du sol non compacté ni inondé mais présence de blocs non émettés	Période plantation Janvier	Période plantation Janvier
		Surface 270 m <sup>2</sup>	Surface 270 m <sup>2</sup>
		durée moyenne du cycle 4 à 5 mois	durée moyenne du cycle 4 à 5 mois
		Surface autre TAP : Tomate greffée sous serre : 240 m <sup>2</sup>	Surface autre TAP : Tomate greffée sous serre : 240 m <sup>2</sup>

EXPLOITATION n° 2		DATE 28.04.2011		ITK: Poivron	
Peuplement végétal	Avant plantation	Plantation	Entretien culture	Récolte	Post récolte
	Pépinière/semis directe Pépinière dans arrière Durée jusqu'à ce que le plant atteigne 15 cm semences Naval (certifié)	densité 5 plants/m <sup>2</sup> dans la serre plantés avec des doubles longs en quinconce 2,1 plants/m <sup>2</sup>	Taille ébourrage passage entièrement des feuilles coriées du bas jusqu'au premier nœud	Fréquence 1 à 0,5 fois par semaine récolte débite 3 mois après plantation 150 kg pour 1 cycle de culture (à 100g/plant/semence)	avachage tardif même si attend par le FB
Irrigation	arrosé à l'eau	Type de système irrigation au goutte à goutte avec système de rotation			
Fertilisation Chaulage	Chaulage 70 kg de dolomie Fumure de fond 70 kg de fumer	Quantité d'apport apportés en 2 à 3 fois pendant 15 minutes d'une solution nutritive en saison des pluies (N.P.K.)			
Traitements pesticides	dés herbages total au glyphosate	l'apport d'engrais se fait via le système d'irrigation 1 seul type de solution nutritive pendant tout le cycle complément foliaire au moment de la fructification.			
Travail du sol	passage du motobric travail du sol à grande profondeur. billons faits à la main pas plastique noir	travail systématique la plantation contre les contaminants et champignon avec un mélange de Karaté et Ortiva. Ensuite traitement systématique toutes les 2 semaines jusqu'à glaucose Puis traitement en curatif. Alternance entre curatif, dévif et vertimole. Desherbage manuel Pas de travail du sol pendant la culture.			

Rotation		Observation Maladie/ Commentaires		Historique flétrissement bactérien	
Pas que suivre 2 solanacées sur la même parcelle Rotation de la parcelle diverses cultures maraichères → courge jachère → poivron → courgette		FB très avancée sur toute la culture. présence de cochenilles. enherbement nul. Pas de nématode à galle.		Essai en plein champ de cultures d'accompagnement qui ont été atteintes par le FB l'an dernier. Essai sur tomates greffées (TMO, casse- se impuissant) sur seldum Toim. il existe tout de même des symptômes du FB.	



## VII. Protocole d'isolement de *R. solanacearum* à partir d'un échantillon de plante

---

Prélever les plantes entières, et les ramener au laboratoire.

Utiliser un outil désinfecté entre chaque échantillons (Ethanol 70% ou NaOCl 1.2%, ou flambé à l'alcool 95°).

Laver les racines et la tige au niveau du collet à l'eau courante + alcool 70°

Couper un fragment de tige d'environ 2 cm, près du collet, avec un sécateur ou scalpel désinfecté (Ethanol 70% ou NaOCl 1.2%, ou flambé à l'alcool 95°)

### **Sous hotte à flux laminaire, ou près d'une flamme :**

Tremper ce fragment dans l'Ethanol 95%, puis flamber

Transférer le fragment en boîte de Pétri 90, stérile

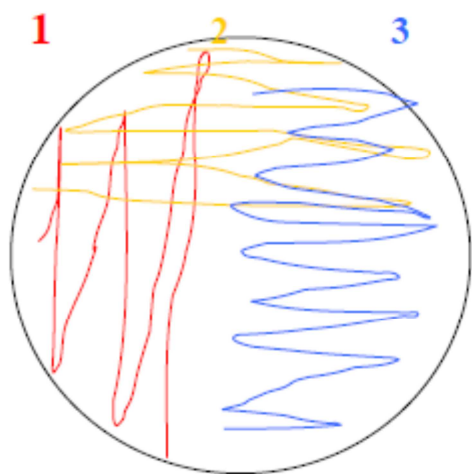
Ajouter environ 5 mL de Tris 0.01M pH7.2 sur les morceaux, et refermer la boîte

A l'aide d'un scalpel et pinces stériles, dilacérer le fragment de tige ; ou à l'aide d'un pilon de mortier stérile écraser le fragment (*R. Coranson-Beaudu, CIRAD*)

Laisser macérer 15 à 20 minutes, à température ambiante, sous la hotte

A l'aide d'une anse 10µL (plastique, à usage unique), prélever une goutte de macérât

Etaler sur milieu SMSA (milieu semi-sélectif), ou à défaut sur milieu Kelman K+ (non sélectif), sur 3 secteurs :



Incuber à 28°C, pendant 24h

Les colonies isolées (sur le secteur 3 de la boîte), caractéristiques de l'agent *R. solanacearum* (muqueuses, ovoïdes, blanches, au centre rosé rouge) sont alors prélevées pour repiquage de purification (cad: étaler sur milieu SMSA (milieu sélectif), ou à défaut sur milieu K+ (non sélectif), sur 3 secteurs.

*Source : protocole fourni par Péninna Deberdt du PRAM-CIRAD de la Martinique*

## VIII. Protocole de conservation des souches de l'agent *R. solanacearum* à température ambiante

---

Les colonies purifiées, caractéristiques de l'agent *R. solanacearum* (muqueuses, ovoïdes, blanches, au centre rosé rouge) sont alors prélevées pour repiquage avant mise en collection sur milieu CPG (cad: Etaler sur milieu CPG (non sélectif, et sans TTC), sur 3 secteurs :

### **Préparation des microtubes de conservation**

Avec une micropipette, injecter 1 à 2 mL (suivant les tubes choisis) d'eau distillée stérile par tube, sous hotte à flux laminaire. Refermer les tubes.

### **Stockage d'une souche**

A partir d'une culture de 1 à 2 jours sur CPG ou Kelman K+, prélever une colonie en raclant 1 anse 1µL par mL d'eau distillée stérile. Transférer le contenu de cette anse dans un tube d'eau distillée stérile. Refermer le tube, puis passer au vortex pour homogénéiser la suspension. Bien identifier le tube (N° de la souche, date de mise en conservation & enregistrement d'informations complémentaires dans cahier d'enregistrement des échantillons).

Ces souches en collection peuvent être repiquées tous les 6-8 mois selon l'aspect des solutions.

### **Remise en culture**

Sous hotte, prélever une à deux anses 10µL dans le tube de conservation. Etaler cette anse sur milieu K+ ou CPG.



## IX. Milieux de culture pour l'agent l'agent *R. solanacearum*

---

### ❖ Milieu semi-sélectif

- Milieu SMSA modifié

**Mélanger les réactifs suivant :**

Casamino acids : 1 g  
Peptone : 10 g  
Glycérol : 5 mL  
Agar 17 : g  
Eau distillée q.s.p. : 985mL

**Ajuster le pH à 7.2**

**Après autoclavage (120°C / 20 min), refroidir le milieu à 50°C puis ajouter :**

TTC : 50 mg	1 mL de solution-mère
Crystal violet : 5 mg	0,5 ml de solution 1%
Polymyxine B sulfate : 100 mg	10 mL de solution 1%
Bacitracine : 25 mg	2,5 mL de solution 1%
Chloramphénicol : 5 mg	0,5 mL de solution 1%
Pénicilline G : 0.5 mg	0,5 mL de solution 0,1%

Solutions-mères d'antibiotiques à 1% : 100 mg / 10 mL Ethanol 70°, sauf pour Polymyxine B sulfate : 300 mg/ 30 mL

Solution Pénicilline G 0.1% : 30 mg dans 30 mL d'eau bidistillée, puis stérilisation par filtration 0.2 µm

*Source : Elphinstone et al 1996, cité par Schaad, Jones & Chun (2001)*

### ❖ Milieux non sélectifs

- Milieu de Kelman modifié (milieu K+)

**Mélanger les réactifs suivant :**

Bacto Peptone : 10 g  
Glucose: 5 g  
Casamino acids : 1 g  
Yeast Extract : 1 g  
Agar : 15 g  
Eau distillée qsp : 1000 ml

**Ajuster le pH à 7.2**

**Après autoclavage (120°C / 20 min), refroidir le milieu à 50°C puis ajouter :**

Clhoreure de Tétrazolum TTC (50 mg/ml) 1 ml

- Milieu CPG (milieu Casamino Peptone Glucose)

**Mélanger les réactifs suivant :**

Bacto Peptone : 10 g

Glucose : 5 g

Casamino acids : 1 g

Yeast Extract : 1 g

Agar : 15 g

Eau distillée qsp : 1000 ml

**Ajuster le pH à 7,2**

**Autoclaver 120°C pendant 20 minutes.**

#### ❖ Tampon d'extraction

- Tampon Tris à 0.01 M et pH 7,2

**Mélanger les réactifs suivant :**

Tris (hydroxyméthyl) amino-méthane : 1,211 g

Eau distillée : 1000 mL

**Ajuster à pH 7,2 (HCl dilué)**

**Autoclaver 120°C pendant 20 min**

*Source : protocole fourni par Peninna Deberdt du PRAM-CIRAD de la Martinique*

## X. Préparation d'un inoculum titré

---

### ❖ Le matériel

Oses de 10µL  
Flacon de 50mL  
Pipettes et micropipette  
Flacon et éprouvette en verre stérile  
Spectrophotomètre et cuves  
Vortex  
Eau distillée stérile  
Milieu CPG  
Milieu SMSA  
Souches bactériennes  
    Phylotype IIB/séquovar4NPB (code labo 010.292)  
    Phylotype I (code labo 010.297)  
    Phylotype II (code labo 010.293)

Tous les consommables utilisés doivent être stériles.

### ❖ Purification et multiplication

La souche provient d'une suspension bactérienne dans eau distillée stérile gardé à température ambiante dans des tubes à eppendorf

Etaler une ose de 10µL de la suspension sur milieu SMSA en secteurs afin d'obtenir sur le 3<sup>e</sup> secteur des colonies bien isolées.

A partir d'une souche pure, prélever 4 grosses anses (10µL) de colonies et les rayer sur milieu CPG.

Faire 5 répliques par type de souches.

Incuber 1 à 2 jours à température ambiante.

### ❖ Préparation de l'inoculum

#### Gratter les boîtes d'inoculum

Injecter 5mL d'eau distillée stérile dans une boîte  
Gratter avec un étaloire stérile  
Verser la suspension obtenue dans un flacon stérile  
Répéter les opérations précédentes jusqu'à dilution satisfaisante des bactéries de la boîte et pour autant de boîtes mères souhaitées.  
On obtient ainsi la solution mère

#### Diluer la solution mère au 1/50<sup>e</sup>

Mettre 4,9mL d'eau stérile dans un flacon stérile  
Ajouter 100µL de la solution mère bien homogénéisée

Vortexer la solution fille obtenue pour homogénéiser

#### Dosage de la suspension

Régler le spectrophotomètre sur la longueur d'onde 600nm

Etalonner le zéro du spectrophotomètre avec de l'eau distillée

Verser la solution fille dans une cuve à spectrophotomètre

Mesurer l'absorbance (DO) de la solution fille. Attention, les DO>1 sortent du domaine de validité de la mesure. Le cas échéant, rediluer la solution fille.

#### Préparer la solution d'inoculation

A 600nm, une DO=1 correspond à  $10^9$  CFU/mL

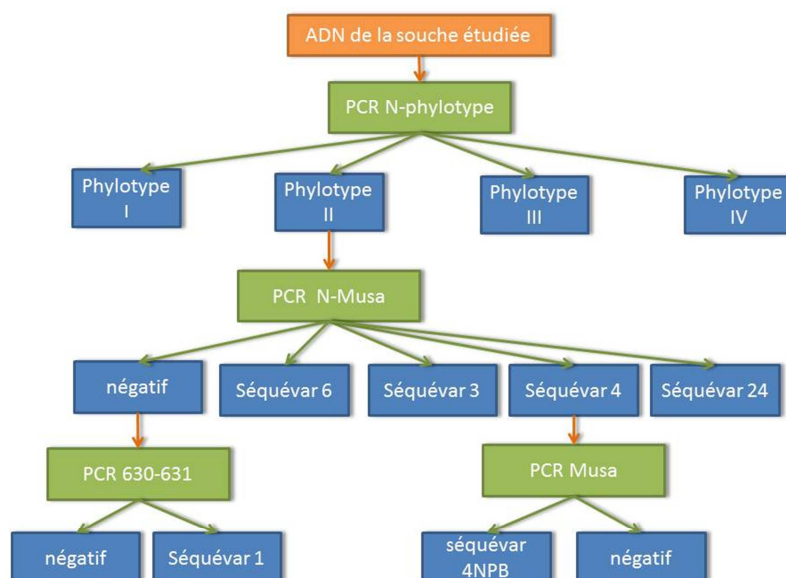
Calculer le volume de solution mère à diluer ( $V_{sm}$ ) pour obtenir un volume de solution d'inoculation ( $V_{si}$ ) à la concentration souhaitée ( $C_{si}$ ) selon la formule suivante :

$$V_{sm} = \frac{V_{si} * C_{si}}{DO * 10^9 * 50}$$

*Source : protocole rédigé sur la base du protocole « préparation d'un inoculum titré » rédigé par Régine Coranson Beaudu du PRAM-CIRAM.*

## XI. Phylotypage de l'agent *R. solanacearum*

Le schéma suivant rappelle le schéma d'utilisation des différentes PCR de cette étude.



### ❖ Préparation du master mix

Le mélange des réactifs se fait dans de la glace avec des consommables stériles.

Le tableau ci-dessous récapitule les quantités en  $\mu\text{L}$  des différents réactifs à mélanger pour le traitement d'une souche.

	PCR N-phylotype	PCR N-musa	PCR musa	PCR 630-631
eau ultra pure	11,55	11,55	7,35	13,05
dNTP 1,25 mM	4,00	4,00	4,00	4,00
tampon 10X	2,50	2,50	2,50	2,50
MgCl2 50 mM	1,00	1,00	0,75	0,75
Mix d'amorces 10X	2,50	2,50	0,00	0,00
Amorce seule en solution	0,00	0,00	8x1 $\mu\text{L}$	2x1,25 $\mu\text{L}$
DMSO	1,25	1,25	0,00	0,00
Taq (5U/ $\mu\text{L}$ )	0,20	0,20	0,40	0,20

Le mélange réactionnel contient les amorces qui permettront d'amplifier le segment d'ADN voulu. Les amorces peuvent être préparées de deux manières :

- En Mix, c'est à dire que toutes les amorces sont mélangées au préalable dans une solution à la concentration voulue puis le mix est rajouté dans le mélange réactionnel. (ligne 6 du tableau)

- Chaque amorce peut être mise en solution séparément à la concentration souhaitée. On rajoute alors les amorces une par une au mélange réactionnel. (ligne 7 du tableau)

Le tableau ci-dessous détaille les amorces utilisées pour chaque PCR.

	nom de l'amorce	identification	séquence
PCR N-phylogène	759-F	<i>R. solanacearum</i>	5'- gtc gcc gtc aac tca ctt tcc-3'
	760-R		5'- gtc gcc gtc agc aat gcg gaa tcg-3'
	Nmult:21:1F	phylogène I	5'- cgt tga tga ggc gcg caa ttt-3'
	Nmult :21 :2F	phylogène II	5'- aag tta tgg acg gtg gaa gtc- 3'
	Nmult :22 :InF	phylogène IV	5'- att gcc aag acg aga gaa gta-3'
	Nmult :23 :AF	phylogène III	5'- att acg aga gca atc gaa aga tt-3'
	Nmult: 22: RR	tous phylogènes	5'- tcg ctt gac cct ata acg agt a-3'
PCR N-Musa	IS24F :	séquévar 3	5'-tc ggg cgt gaa gag gca gac-3'
	IS24R :		5'-gga ggt gtg cgc atc aac ctg-3'
	MUS20F :	séquévar 4	5'-cgg gtg gct gag acg aat atc-3'
	MUS20R :		5'-gcc ttg tcc aga atc cga atg-3'
	Si28-F:	séquévar 6	5'- cgt tct cct tgt cag cga tgg-3'
	Si28-R:		5'- ccc gtg tca ccc cga tag c-3'
	VC46F :	séquévar 24	5'-ctc ctg gga gtc ggt tgg gtc-3'
	VC46R :		5'-agg gaa ctt agg cg tga ctg-3'
PCR Musa	Mus35-F:		5'- gca gta aag aaa ccc ggt gtt-3'
	Mus35-R:		5'- tct ggc gaa aga cgg gat gg-3'
	Mus20-F:	séquévar 4	5'- cgg gtg gct gag acg aat atc-3'
	Mus20-R:		5'- gcc ttg tcc aga atc cga atg-3'
	Mus06-F:		5'- gct ggc att gct ccc gct cac-3'
	Mus06-R:		5'- tcg ctt ccg cca aga cgc-3'
	Si28-F:	séquévar 6	5'- cgt tct cct tgt cag cga tgg-3'
	Si28-R:		5'- ccc gtg tca ccc cga tag c-3'
PCR 630-631	630-F	séquévar 1	5'- ata cag aat tcg acc ggc acg-3'
	631-R		5'- aat cac atg caa ttc gcc tac-3'

### ❖ Préparation du mélange réactionnel

	Code ADN de référence	Identification
PCR N-phylogène	GMI1000	phylogène I
	ANT307	phylogène II
	CFBP3059	phylogène III
	MAFF301558	phylogène IV
PCR musa	UW162	séquévar 4
	UW11	séquévar 3
	UW21	séquévar 6
	05-152	séquévar 24
PCR musa	UW162	séquévar 4



	UW11	séquévar 3
	ANT307	séquévar 4NPB
	UW21	séquévar 6
	05-152	séquévar 24
PCR 630-631	05-160	
	05-163	

Préparer le volume adéquat de master mix pour traiter le nombre voulu de souches. (Prévoir une quantité supplémentaire de master mix pour le témoin et les ADN de référence).

Placer les microtubes sur un support à eppendorf puis les labelliser pour identifier les différentes souches, le témoin, les ADN de référence.

Verser 23µL du master mix dans chaque microtube.

Verser dans chaque microtube labellisé 2µL de suspension de la bactérie correspondante (conservée dans de l'eau distillée stérile), 2 µL de chaque ADN de référence (voir tableau ci-contre) et 2µL d'eau distillée stérile dans le microtube témoin.

### ❖ Réalisation de la PCR

Placer les microtubes bien fermés dans un thermocycleur.

Utiliser les programmes suivant pour les différentes PCR :

		température	durée	nombre de cycles		température	durée	nombre de cycles
PCR N-phylo type		96°C	5 min	1	PCR musa	96°C	5 min	1
		94°C	30 s	30		92°C	15 s	30
		59°C	90 s			59°C	15 s	
		72°C	90 s			72°C	30 s	
		72°C	20 min	1		72°C	10 min	1
		4°C	jusqu'au dépôt sur gel			4°C	jusqu'au dépôt sur gel	
PCR N-musa		96°C	5 min	1				
		94°C	15 s	30				
		59°C	30 s					
		72°C	30 s					
		72°C	10 min	1				
		4°C	jusqu'au dépôt sur gel					

### ❖ Migration sur gel

Préparer un gel d'agarose à 2%.

Le placer dans l'électrophorèse et le recouvrir de tampon TAE.

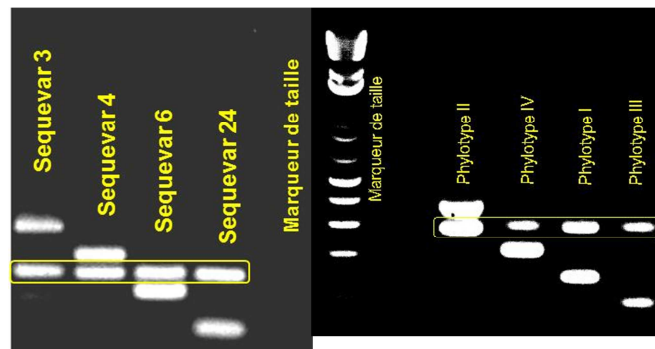
Verser dans chaque puits 5µL d'amplifiats (issu de la PCR) et 1µL de tampon de charge.

Rajouter dans l'un des puits 5µL de marqueur de poids moléculaire.

Faire migrer pendant environ 1h à 4V/cm.

### ❖ Révélation du gel

Révéler le gel par coloration en le faisant tremper dans 0,5µG/mL de bromure d'éthidium.



**Exemples de révélation de gel.** Les amplifiats encadrés en jaune sont spécifiques de l'espèce *Ralstonia Solanacearum*. A gauche : Fegan, M et Prior, P ; 2005. A droite : Prior, P et Fegan, M ; 2006.

Sources :

Rédigé sur la base des protocoles fournis par R. Coranson-Beaudu du CIRAD-PRAM.

M. Fegan and P. Prior. 2005. How complex is the "Ralstonia species complex", edited by P. Prior, C. Allen and C. Hayward. Madison: APS Press

## XII. Modalité des variables de la typologie

code des modalités	mode de culture des solanacées	pratiques de stérilisation	origine des semences	préparation des plantules	gestion des plants flétris	entretien du peuplement végétal
1	hors sol sous abris	oui	Semence certifiée achetée. Le plus souvent présentant une résistance au flétrissement bactérien	En alvéole et/ou godet dans du terreau sain ou achetées en pépinière	arrachage progressif des plants atteints et arrachage immédiat de la culture de solanacée flétrie (ou non) après arrêt du cycle	taille
2	sous abris en plein sol	non	semence multipliée par l'agriculteur	en vrac dans du terreau	pas d'arrachage progressive et culture laissée sur place en fin de cycle ou résidu enfoui	taille de rectification et tuteurage
3	plein champ			en vrac à même le sol		aucune taille et pas de tuteur
code des modalités	présence d'eau stagnante	assainissement du substrat	mode d'irrigation	gestion phytosanitaire de la culture	présence d'espèces à risques sur l'exploitation	rotation
1	jamais	substrat artificiel sain ou assaini	goutte à goutte	ciblé efficace	pas de cucurbitacées ni bananes dans l'exploitation	hors sol
2	zone très humide ou inondation	sol assaini	aucun	usage non performant	cucurbitacées et solanacées moins importantes (pas de banane)	rotation longue incluant souvent une jachère
3		sol non traité	aspersion	aucun usage alors qu'il y a pression parasitaire	bananes cucurbitacées et solanacées sont une part importante des espèces cultivées	rotation courte souvent avec une cucurbitacée
4			subirrigation			pas de rotation, solanacée sur solanacée ou monoculture

### XIII. Tableau des données de la typologie

exploitation	nom	type_culture	origine_sem	pepiniere	source_inoc	taille	eau_stagn	irrigation	steril_sol	steril_outil	phyto	espece_risq	rotation
1	tresorca	2	1	1	1	2	2	2	3	2	1	3	2
2	xiong kou	2	1	1	2	1	1	1	3	2	1	3	4
4	san René Vito	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	3	3
5	chang	3	2	3	2	2	1	3	3	2	1	3	4
6	wongsodjiwo	2	1	1	2	2	1	1	3	2	2	2	3
7	ya solange	3	2	1	2	2	1	2	3	2	2	3	4
9	cha vu	2	2	1	2	2	2	3	3	2	1	2	4
10	albert siong	3	2	1	2	2	1	1	3	2	1	1	2
11	café	2	1	1	2	1	1	1	3	2	3	3	4
12	vangpaoly	2	1	3	2	2	1	3	3	2	2	2	3
13	wang	3	1	1	1	2	1	3	3	2	1	2	2
14	van bouncheu	2	1	1	2	2	1	1	3	2	2	2	3
15	robert siong	2	1	1	1	2	1	3	3	2	1	3	2
16	heumby	3	2	3	2	2	1	2	3	2	2	3	2
17	paul tho tai	3	2	1	2	2	1	3	3	2	1	3	1
18	pascal fricker	2	1	1	1	1	2	1	2	2	1	1	2
19	ly boun chang	3	2	1	2	2	1	3	3	2	1	3	4
20	pavilla	1	2	3	2	2	1	4	1	2	2	1	1
21	pereira	2	1	1	2	1	1	2	3	2	1	2	2
22	épinrière exotik	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
23	agnes (samue	3	1	1	2	2	1	2	3	2	2	2	1
24	ya va thai	3	1	3	2	1	1	2	3	2	1	2	2
25	redjosefiko	2	1	2	2	2	1	2	3	2	3	3	1
26	sangui ta	3	2	3	2	2	1	2	3	2	3	3	4
27	solega franck	1	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
28	ernard ya mbou	3	2	1	1	1	2	3	3	2	1	3	4
29	nedjarry	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

## XIV. Script de l'analyse statistique de typologie

---

```
analyse2=read.csv('extremum2.csv', sep=';', header=TRUE, na.strings='na')
head(analyse2)
```

```
analyse2$rotation=as.factor(analyse2$rotation)
analyse2$steril_outil=as.factor(analyse2$steril_outil)
analyse2$steril_sol=as.factor(analyse2$steril_sol)
analyse2$irrigation=as.factor(analyse2$irrigation)
analyse2$eau_stagn=as.factor(analyse2$eau_stagn)
analyse2$pepiniere=as.factor(analyse2$pepiniere)
analyse2$origine_sem=as.factor(analyse2$origine_sem)
analyse2$taille=as.factor(analyse2$taille)
analyse2$type_culture=as.factor(analyse2$type_culture)
analyse2$source_inoc=as.factor(analyse2$source_inoc)
analyse2$exploitation=as.factor(analyse2$exploitation)
analyse2$espece_risq=as.factor(analyse2$espece_risq)
```

```
acm <- dudi.acm(analyse2[,3:14], scannf = FALSE)
barplot(acm$eig)
acm <- dudi.acm(analyse2[,3:14], scannf = FALSE,nf=4)
scatter(acm, col = rep(c("black", "green3", "red3", "darkblue"),5))
plot(acm$li[,1],acm$li[,2],type='n')
text(acm$li[,1],acm$li[,2],analyse2$exploitation)
?rownames
abline(h=0) ##### axe abscisse centré en 0
abline(v=0) ##### axe ordonnée centré en 0
x11()
```

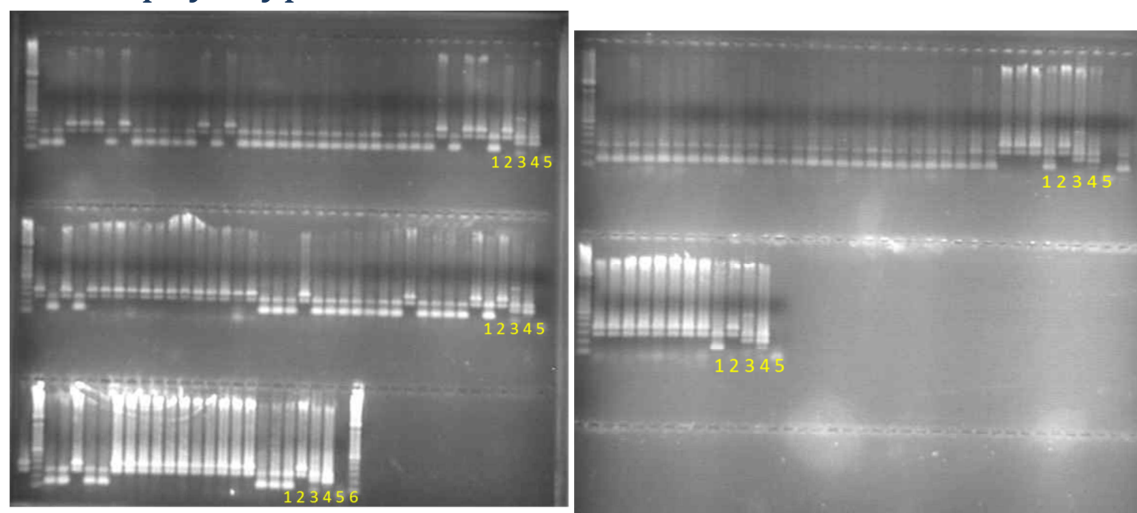
```
diss=daisy(analyse2[,3:14])
categ=agnes(diss)
plot(categ, labels=analyse2[,2], hang=-1)
classes=cutree(categ,k=6)
classes
dep=as.character(analyse2[,1])
dep
for (ik in 1:6) {
  print(ik)
  print(dep[classes==ik])
}
```

## XV. Résultats de la migration sur gel

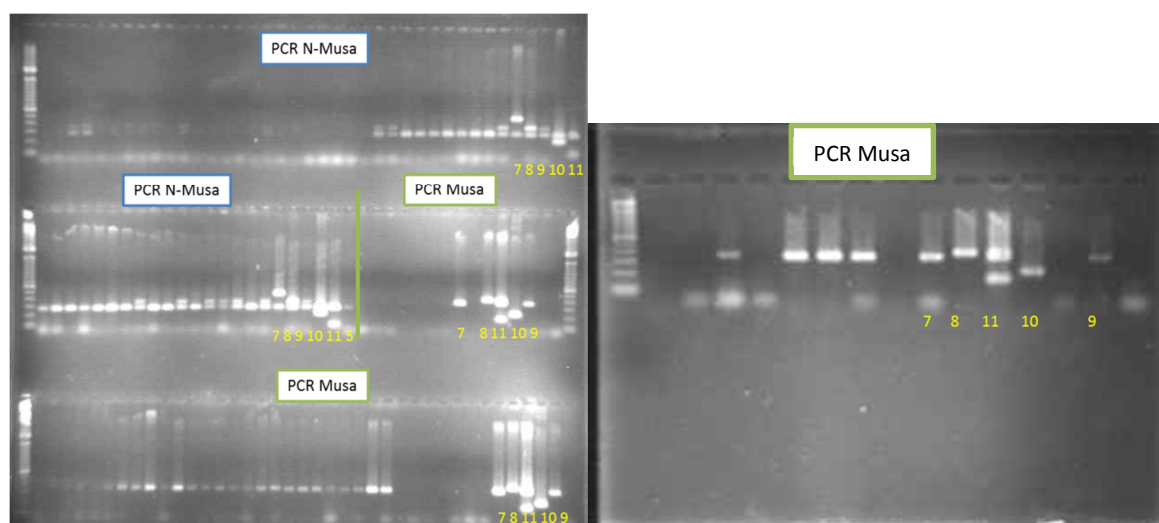
Légende :

1 : phylotype I, 2 : phylotype II, 3 : phylotype III, 4 : phylotype IV 5 : témoin eau, 6 : marqueur de poids, 7 : séquévar 3, 8 : séquévar 4A, 9 : séquévar 4NPB, 10 : séquévar 6, 11 : séquévar 24, 12 : séquévar 1

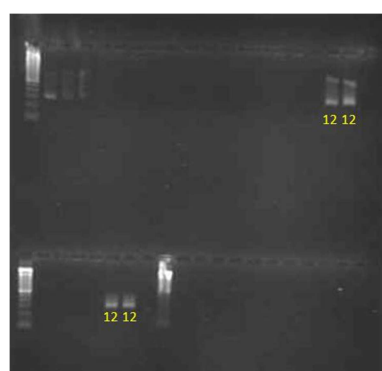
### PCR N-phylotype



### PCR N-MUSA et MUSA



### PCR 630-631



Les trois souches déposées dans les puits 2, 3 et 4 sont de séquévar 1. En effet, les amplifiats de l'ADN de ces souches se situent au même niveau que ceux des souches références (12) que l'on sait être de séquévar 1.



## XVI. Données du phylotypage

zone_expl	famille_precedent	risque	sol	cat_pH	espece_hote	sequevar	musa
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
2	jachere	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	oui
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	I	oui
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	I	oui
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	IIB_4npb	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	IIB_4npb	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	IIB_4npb	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	I	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	IIB_4npb	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	I	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	I	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	I	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	I	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	IIB_4npb	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	I	non
3	pls_espece	a_risque	a	inf_55	poivron	IIB_4npb	non
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	I	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	I	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	IIB_4npb	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	I	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	IIB_4npb	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	IIB_4npb	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	IIB_4npb	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	I	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	IIB_4npb	oui
2	curcurbit	a_risque	la	sup_55	poivron	I	oui
1	brasica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brasica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brasica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui

1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	brastica	sans_risque	sa	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	IIB_4npb	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	I	non
1	solana	a_risque	sa	inf_55	poivron	IIB_4npb	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	IIA_1	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	IIA_1	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	IIA_1	non
3	malva	sans_risque	a	inf_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non

1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
1	jachere	sans_risque	a	sup_55	aubergine	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
3	solana	a_risque	a	sup_55	tomate_g	I	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	IIB_4npb	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
2	astera	sans_risque	la	sup_55	tomate	II	non
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	II	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	II	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	II	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	II	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	II	oui
3	curcurbit	a_risque	a	inf_55	tomate	IIB_4npb	oui

## XVII. Script d'analyse des données du phylotypage

---

```
phylosimple=read.csv('phylo_simple.csv',header=TRUE, sep=';')
phylosimple

phylosimple$zone_expl=as.factor(phylosimple$zone_expl)

acm <- dudi.acm(phylosimple, scannf = FALSE)
barplot(acm$eig)
acm <- dudi.acm(phylosimple, scannf = FALSE,nf=5)

x11()
couleur=as.character(phylosimple$zone_expl)
plot(acm$li[,1],acm$li[,2],type='n')
text(acm$li[,1],acm$li[,2],rownames(phylosimple),col=couleur)
abline(h=0) ##### axe abscisse centré en 0
abline(v=0) ##### axe ordonnée centré en 0

scatter(acm, col = rep(c("black", "green3", "red3", "darkblue"),5))

x11()
par(mfrow = c(1,1), mar = c(5, 8, 2, 2))
barplot(acm$scr[, 1], horiz = TRUE, xlim = c(0, 1), names.arg = colnames(phylosimple),
las = 1, main = "premier facteur", col = "lightblue", xlab = "Rapport de correlation")
x11()
par(mfrow = c(1,1), mar = c(5, 8, 2, 2))
barplot(acm$scr[,2], horiz = TRUE, xlim = c(0, 1), names.arg = colnames(phylosimple),
las = 1, main = "deuxième facteur", col = "lightblue", xlab = "Rapport de correlation")

x11()
s.corcircle(acm$co[,1:2])

##analyse test fisher
attach(phylosimple)
fisher.test(sequevar,zone_expl)
fisher.test(sequevar,sol)
fisher.test(sequevar,risque)
fisher.test(sequevar,musa)
chisq.test(sequevar,famille_precedent)
fisher.test(sequevar,espece_hote,8e6)
fisher.test(sequevar,cat_pH)
```

## XVIII. Données statistiques de l'expérience de criblage

espece	variete	souche	nb_mort	nb_vivant	tx_flet	AUDPC	tx_coloni
aubergine	african beauty	I	3	5	0,375	34	0,375
aubergine	black beauty	I	2	6	0,25	22,5	0,25
aubergine	commodore	I	4	4	0,5	47	0,5
poivron	narval f1	I	0	8	0	0	0,125
poivron	tibesti	I	0	8	0	0	0
poivron	ganga	I	0	8	0	0	0,125
poivron	stella f1	I	0	8	0	0	0
poivron	yolo wonder	I	0	8	0	0	0
tomate	carioca	I	1	7	0,125	9	0,125
tomate	Samruthi	I	2	6	0,25	22,5	0,375
tomate	calypso	I	7	1	0,875	102,5	0,875
tomate	roma vf	I	6	2	0,75	69,5	0,875
tomate	marmande	I	5	3	0,625	52	0,625
tomate	calinago	I	3	5	0,375	38	0,5
tomate	mongal	I	3	5	0,375	46,5	0,5
tomate	caracoli	I	1	7	0,125	15,5	0,25
tomate	sumo	I	5	3	0,625	62,5	0,875
tomate	TW6	I	2	6	0,25	12,5	0,375
aubergine	fond may	I	3	5	0,375	21	0,5
aubergine	orma	I	6	2	0,75	88,5	0,75
tomate	heat master	I	2	6	0,25	37	0,5
tomate	pratico	I	4	4	0,5	71	0,625
aubergine	african beauty	II	1	7	0,125	7	0,125
aubergine	black beauty	II	5	3	0,625	72,5	0,625
aubergine	commodore	II	3	5	0,375	33,5	0,375
poivron	narval f1	II	0	8	0	0	0
poivron	tibesti	II	0	8	0	0	0
poivron	ganga	II	0	8	0	0	0,125
poivron	stella f1	II	0	8	0	0	0
poivron	yolo wonder	II	0	8	0	0	0
tomate	carioca	II	4	4	0,5	60	0,75
tomate	Samruthi	II	1	7	0,125	9	0,125
tomate	calypso	II	1	7	0,125	20	0,25
tomate	roma vf	II	6	2	0,75	93	0,75
tomate	marmande	II	4	4	0,5	50,5	0,625
tomate	calinago	II	3	5	0,375	38	0,5
tomate	mongal	II	2	6	0,25	18	0,5
tomate	caracoli	II	2	6	0,25	31	0,25
tomate	sumo	II	1	7	0,125	20	0,25
tomate	TW6	II	3	5	0,375	38	0,625
aubergine	fond may	II	0	8	0	0	0,125

aubergine	orma	II	5	3	0,625	69	0,75
tomate	heat master	II	1	7	0,125	20	0,25
tomate	pratico	II	1	7	0,125	15,5	0,5
aubergine	african beauty	4NPB	3	5	0,375	29	0,375
aubergine	black beauty	4NPB	6	2	0,75	72	0,75
aubergine	commodore	4NPB	4	4	0,5	47	0,5
poivron	narval f1	4NPB	0	8	0	0	0
poivron	tibesti	4NPB	0	8	0	0	0
poivron	ganga	4NPB	3	5	0,375	30	0,375
poivron	stella f1	4NPB	1	7	0,125	7	0,125
poivron	yolo wonder	4NPB	3	5	0,375	18	0,375
tomate	carioca	4NPB	2	6	0,25	40	0,5
tomate	Samruthi	4NPB	6	2	0,75	60	0,875
tomate	calypso	4NPB	3	5	0,375	45	0,375
tomate	roma vf	4NPB	7	1	0,875	79,5	1
tomate	marmande	4NPB	4	4	0,5	54,5	0,75
tomate	calinago	4NPB	6	2	0,75	59,5	0,75
tomate	mongal	4NPB	2	6	0,25	8,5	0,5
tomate	caracoli	4NPB	4	4	0,5	37	0,625
tomate	sumo	4NPB	3	5	0,375	31,5	0,5
tomate	TW6	4NPB	5	3	0,625	77,5	0,625
aubergine	fond may	4NPB	3	5	0,375	21	0,375
aubergine	orma	4NPB	4	4	0,5	49	0,5
tomate	heat master	4NPB	4	4	0,5	38,5	0,625
tomate	pratico	4NPB	1	7	0,125	7	0,375



## XIX. Script d'analyse des données de l'expérience de criblage

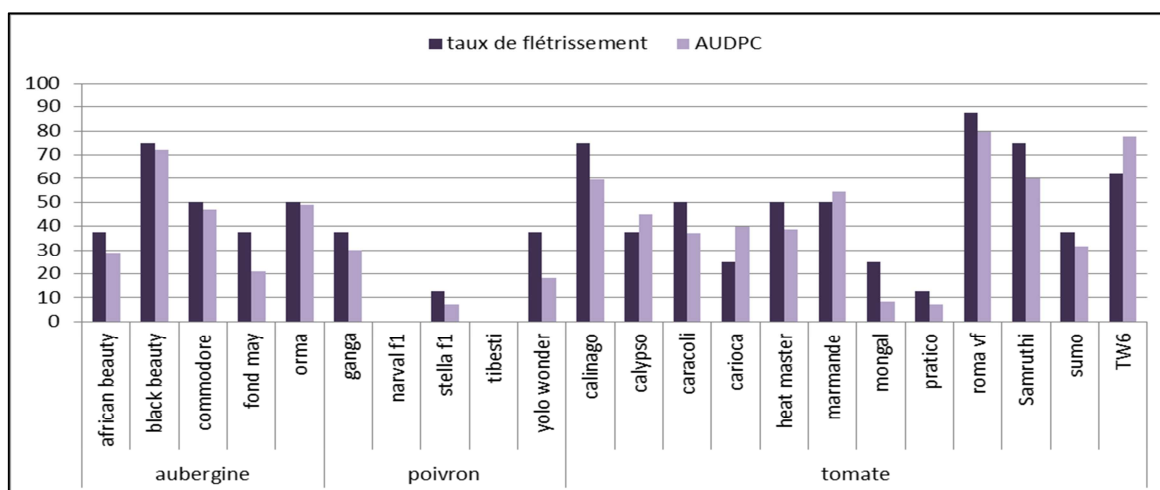
---

```
expe=read.csv('exp_variete.csv',header=TRUE, sep=';',dec=',')
head(expe)
####transformation de bliss ou sqrt
sqrt_txklet=sqrt(expe$tx_klet)
asin_txklet=asin(sqrt_txklet)
sqrt_tx_coloni=sqrt(expe$tx_coloni)
asin_tx_coloni=asin(sqrt_tx_coloni)
sqrt_audpc=sqrt(expe$AUDPC)
####étude des modèles sur le taux de fletrissement, audpc et indice de colonisation
mod1=glm(sqrt_txklet~variete+souche, data=expe) #aic=-21.577
mod6=glm(sqrt_audpc~variete+souche, data=expe) #aic=288.18
mod7=glm(sqrt_tx_coloni~variete+souche, data=expe) #aic=-33.69
plot(mod1)
plot(mod6)
plot(mod7)
summary(mod1)
summary(mod6)
summary(mod7)
anova(mod1)
anova(mod6)
anova(mod7)
####modèle linéaire à loi binomiale
Y=cbind(expe$nb_mort,expe$nb_vivant)
glm_1=glm(Y~variete+souche, family = binomial(logit),data=expe) #aic=229.72
plot(glm_1)
summary(glm_1)
anova(glm_1)
#####catégorisation
expe[,6:7]
fan2=fanny(expe[,6:7],k=2,diss=FALSE)
fan3=fanny(expe[,6:7],k=3,diss=FALSE)
fan4=fanny(expe[,6:7],k=4,diss=FALSE)
fan5=fanny(expe[,6:7],k=5,diss=FALSE)
fan6=fanny(expe[,6:7],k=6,diss=FALSE)
#comparaisons faites pour les fan2 à fan5
clu=cluster.stats(fan4$diss,fan$clustering,alt.clustering=fan5$clustering)
clu$corrected.rand

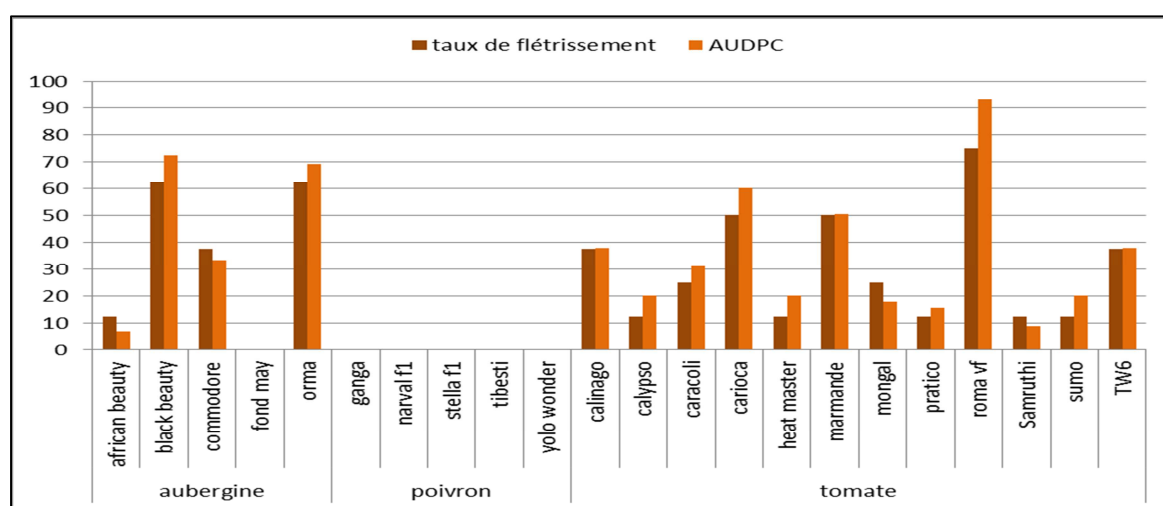
#meilleur clustering pour k=3
fan3$clustering
```

## XX. AUDPC, taux de colonisation et taux de flétrissement

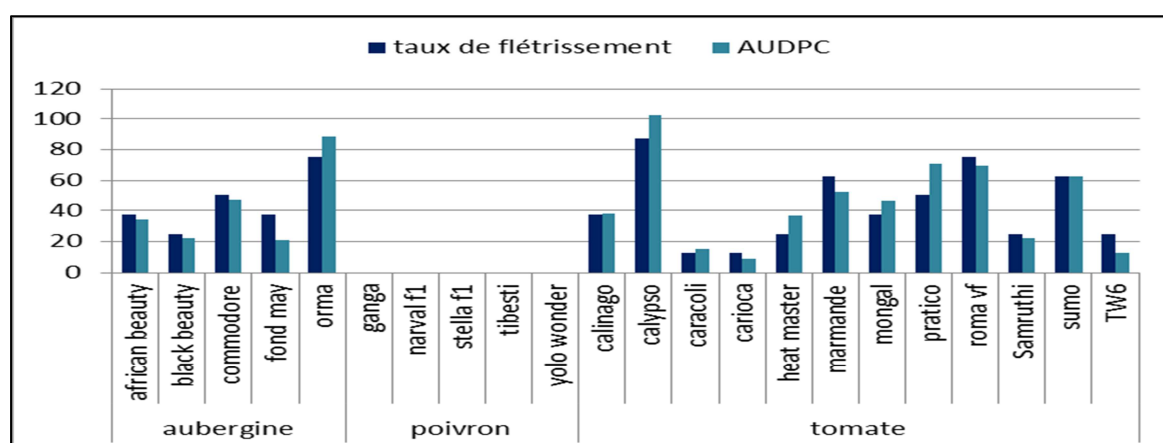
espèces	variétés	souche I			souche II			souche IIB/4NPB		
		taux de flétrissement	AUDPC	indice de colonisation	taux de flétrissement	AUDPC	indice de colonisation	taux de flétrissement	AUDPC	indice de colonisation
aubergine	african beauty	38%	34,0	38%	13%	7,0	13%	38%	29,0	38%
	black beauty	25%	22,5	25%	63%	72,5	63%	75%	72,0	75%
	commodore	50%	47,0	50%	38%	33,5	38%	50%	47,0	50%
	fond may	38%	21,0	50%	0%	0,0	13%	38%	21,0	38%
	orna	75%	88,5	75%	63%	69,0	75%	50%	49,0	50%
poivron	espèce aubergine	45%	42,6	48%	35%	36,4	40%	50%	43,6	50%
	ganga	0%	0,0	13%	0%	0,0	13%	38%	30,0	38%
	narval f1	0%	0,0	13%	0%	0,0	0%	0%	0,0	0%
	stella f1	0%	0,0	0%	0%	0,0	0%	13%	7,0	13%
	tibesti	0%	0,0	0%	0%	0,0	0%	0%	0,0	0%
	yolo wonder	0%	0,0	0%	0%	0,0	0%	38%	18,0	38%
	espèce poivron	0%	0,0	5%	0%	0,0	3%	18%	11,0	18%
tomate	calinago	38%	38,0	50%	38%	38,0	50%	75%	59,5	75%
	calypso	88%	102,5	88%	13%	20,0	25%	38%	45,0	38%
	caracoli	13%	15,5	25%	25%	31,0	25%	50%	37,0	63%
	carioca	13%	9,0	13%	50%	60,0	75%	25%	40,0	50%
	heat master	25%	37,0	50%	13%	20,0	25%	50%	38,5	63%
	marmande	63%	52,0	63%	50%	50,5	63%	50%	54,5	75%
	mongal	38%	46,5	50%	25%	18,0	50%	25%	8,5	50%
	pratico	50%	71,0	63%	13%	15,5	50%	13%	7,0	38%
	roma vf	75%	69,5	88%	75%	93,0	75%	88%	79,5	100%
	Samruthi	25%	22,5	38%	13%	9,0	13%	75%	60,0	88%
	sumo	63%	62,5	88%	13%	20,0	25%	38%	31,5	50%
	TW6	25%	12,5	38%	38%	38,0	63%	63%	77,5	63%
Total général	espèce tomate	43%	44,9	54%	30%	34,4	45%	49%	44,9	63%
		34%	34,2	41%	24%	27,0	34%	42%	36,9	49%



Taux de flétrissement (%) et AUDPC en fonction des différentes variétés pour la **souche IIB/4NPB**

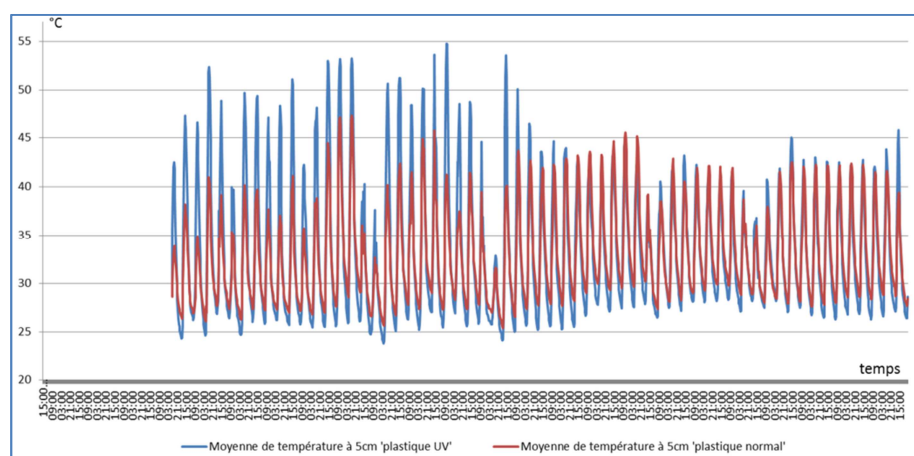


Taux de flétrissement (%) et AUDPC en fonction des différentes variétés pour la **souche II**

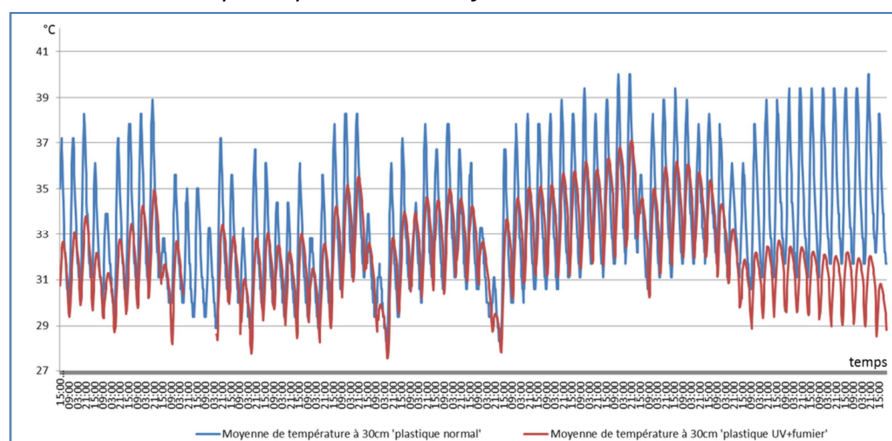


Taux de flétrissement (%) et AUDPC en fonction des différentes variétés pour la **souche I**

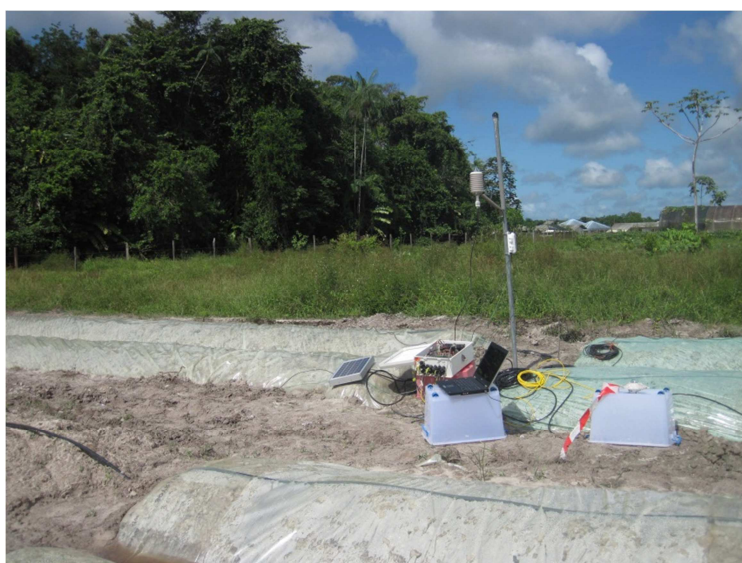
## XXI. Températures du sol lors de l'expérience de solarisation



*Températures à 5cm de profondeur des traitements 'plastique anti-UV' et 'plastique normal' en fonction des heures*



*Températures à 30cm de profondeur des traitements 'plastique anti-UV' et 'plastique normal' en fonction des heures*



*Photo de la parcelle expérimentale de solarisation*



## Summary

*R. solanacearum* is a soil born pathogen that causes bacterial wilt disease. The genetic diversity of the *R. solanacearum* species complex is broad and very plastic. Strains that show similar genetic characteristics similar are gathered in categories called phylotype, themselves subdivided into sequevars. In French Guiana, the damages caused by *R. solanacearum* are even more serious as the hot humid and rainy climate is an enhancer to the multiplication and spreading of the bacteria. The problem of bacterial wilt appears to be the major obstacle to the development of solanaceae field crops in French Guiana.

Thus, one of the objectives of the study is to diagnose the risk in agricultural practices of farmers growing tomatoes, eggplants or peppers (TEP). Another goal is to deepen knowledge on the genetic population of *R. solanacearum* in order to be able to characterize the importance of strains of phylotype IIB sequevar 4NPB in French Guiana. At last, the study includes realizing two assays. The first one will test the effects of soil solarization method as a mean of limiting the aggressiveness of the disease. The other one is a cultivar screening test. The sensibility of several cultivars is tested by artificial inoculation of three strains of *R. solanacearum* of different phylotypes.

It has been decided to investigate a small sample of farmers growing either tomatoes, eggplants or peppers. The area of study is limited to the coastal area and focused on its 3 mains vegetable growing areas. Thanks to this step, data on agricultural practices were collected. At the same time, sampling of strains was leaded. We aimed to collect a dozen of strains in each farm sampled for the three species in each of the three vegetable growing areas. The typology of farms is achieved through the classification according to the assessment of the crop management system risk. Thanks to phylotyping, we have been able to know the different sequevars and phylotypes spread in French Guiana. Finally, the assays of cultivar screening and solarization are established taking into account the practical constraints. Variables such as the wilting rate are calculated in order to discuss the impact of the different treatment from each trial.

Thanks to strains phylotyping we now know that the very aggressive emerging sequevar is well established in French Guiana. The study also provided information on the geographic distribution of phylotypes and confirmed the impact of preceding crops on the genetic characterization of *R. solanacearum* population found on host crops. The cultivar screening trial indicates some varieties as more resistant than others. However, it is a necessity to repeat the experiment to confirm these results. The solarization experiment shows that plastic laid on the ground even if it's not anti-UV provides a significant increase in soil temperatures. However, it remains unclear whether this will be enough to reduce the incidence of the disease. Indeed, the experiment is still ongoing. Finally, the typology of crop management practices clustered farms into 5 groups from the more risky to the less risky. Almost half of farmers of the sample are included in the two riskiest categories. The typology can be improved by taking into account other variables such as environmental ones.

This work compiles data that will find another use in the future implementation of the plan (ecophyto 2018) that aims to reduce use of pesticides in French Guiana.



## Résumé de stage

L'agent *R. solanacearum* est une bactérie pathogène du sol qui cause la maladie du flétrissement bactérien. La diversité de l'espèce *R. solanacearum* est grande et très plastique. On regroupe les souches à caractéristiques génétiques semblables dans des catégories appelées phylotype, elle-même subdivisées en séquévar. En Guyane, les dégâts causés par l'agent *R. solanacearum* sont d'autant plus graves que le climat, chaud, pluvieux et humide est propice au développement et à la propagation de la bactérie. Le problème récurrent du flétrissement bactérien semble être l'obstacle majeur à l'essor de ces cultures en plein champ.

Ainsi, l'un des objectifs du stage est de diagnostiquer le danger inhérent aux pratiques agricoles des exploitants cultivant des tomates, aubergines ou poivrons (TAP). D'autre part, on cherche à approfondir les connaissances génétiques sur la population de l'agent *R. solanacearum* de Guyane. En effet, cela renseignera notamment sur le degré d'importance de l'implantation des souches de phylotype IIB séquévar 4NPB en Guyane. Enfin, le dernier volet du stage consiste en deux essais : l'un pour tester les effets de la méthode de solarisation du sol comme moyen de limitation de l'incidence de la maladie, l'autre consiste en un criblage variétal. La sensibilité de plusieurs variétés est testée face au moyen de l'inoculation artificielle de 3 souches de l'agent *R. solanacearum* de phylotypes différents.

On choisit de questionner un échantillon réduit d'agriculteurs de TAP répartis dans les 3 bassins maraichers les plus importants du littoral guyanais. Cette étape permet de récupérer les données sur les pratiques agricoles. En parallèle le travail d'échantillonnage de souches est mené. On cherche à collecter une dizaine de souches par exploitation pour les trois espèces dans chaque bassin maraicher. La typologie des groupes d'agriculteurs est réalisée grâce au classement des itinéraires techniques selon l'évaluation du danger que représentent certaines pratiques culturales. Le phylotypage permet de connaître les différents séquévars et phylotypes retrouvés en Guyane. Enfin, les expériences de criblage variétal et de solarisation sont mises en place en prenant en compte les contraintes de terrain. Des variables comme le taux de flétrissement, sont relevées afin de pouvoir interpréter l'impact des différents traitements des essais.

Grâce au phylotypage des souches on sait maintenant que le séquévar émergent, très agressif, est bien implanté en Guyane. L'étude a renseigné également sur la distribution géographique des autres phylotypes et a confirmé l'impact des précédents culturaux sur la nature génétique de la population de l'agent *R. solanacearum* présente sur les cultures. L'expérience de criblage variétal permet d'identifier certaines variétés comme plus résistantes que d'autres. Cependant, il est impératif de répéter l'expérience pour confirmer ces résultats. L'expérience de solarisation montre que la pose de plastique sur le sol même non traité anti-uv permet une hausse significative des températures du sol. Néanmoins, on ne sait toujours pas si cela suffira pour diminuer l'incidence de la maladie. En effet, l'expérience est toujours en cours. Enfin, la typologie des itinéraires techniques répartit les exploitations dans 5 groupes du plus risqué aux moins risqués. Près de la moitié des agriculteurs de l'échantillon se situe dans les 2 catégories les plus risquées. Le travail de typologie peut être amélioré en y ajoutant notamment des variables environnementales.

Ce travail compile des données qui trouveront une autre utilité dans la mise en place future du plan de réduction d'utilisation des phytosanitaires en Guyane (ecophyto 2018).